

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE POSTGRADO**

PROYECTO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**“MAGÍSTER EN GESTIÓN INTEGRAL DE LABORATORIOS DE
QUÍMICA”**

TEMA:

Evaluación de la carga microbiana y la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada en los alimentos con carne de pollo cruda en mercados populares y de franquicias en la ciudad de Guayaquil.

AUTOR:

Patricia Nataly Echeverria Ortega

Guayaquil – Ecuador

2024

RESUMEN

Se examinó la carga bacteriana de *Escherichia coli* (*E. coli*) en tres mercados distintos de Guayaquil entre agosto y diciembre de 2023. Se llevaron a cabo muestreos adecuados y se mantuvo la cadena de frío. Las muestras fueron analizadas en un laboratorio certificado por el SAE en Durán.

En el mercado mayorista 1A, ubicado en el Km 8 ½ vía a Daule, se analizaron 48 muestras de pollo crudo durante los meses de agosto a octubre de 2023. No se detectó contaminación con *E. coli*, pero si se detectó contaminación con Coliformes Totales. Sin embargo, durante noviembre y diciembre de 2023, cuando el mercado mayorista 1B, ubicado en el Paraíso de la Flor, fue sometido a un cambio, se detectó contaminación por *E. coli* en 105 muestras de pollo crudo analizadas. De estas muestras, el 71% no cumplía con los requisitos establecidos por la norma INEN 2346:2010, mientras que solo el 29% cumplía con el estándar de 100 unidades formadoras de colonias por gramo.

En el mercado 2 (franquicia 1) ubicado en la Alborada 9na etapa y en el mercado 3 (franquicia 2) ubicado en Los Rosales 1, se recolectaron 133 y 132 muestras respectivamente, durante los meses de agosto a noviembre de 2023. En estas muestras no se encontró contaminación por *E. coli*, pero si se detectó contaminación de Coliformes Totales.

Las colonias de *E. coli* extraídas de las muestras del mercado 1B, que no cumplían con los requisitos de la norma INEN 2346:2010, fueron sometidas a pruebas de antibiograma para determinar su concentración mínima inhibitoria, se llevó a cabo el ensayo con el antibiótico Gentamicina en un rango de inhibición de 39,2 µg/ml a 308 µg/ml, y se determinó que la sensibilidad se manifestaba a una concentración de 130,8 µg/ml.

ABSTRACT

The bacterial load of *Escherichia coli* (*E. coli*) was examined in three different markets in Guayaquil between August and December 2023. Adequate sampling was carried out and the cold chain was maintained. The samples were analyzed in a laboratory certified by the SAE in Durán.

In the 1A wholesale market, located at Km 8 ½ road to Daule, 48 raw chicken samples were analyzed during the months of August to October 2023. No contamination with *E. coli* was detected, but contamination with Total Coliforms was detected. However, during November and December 2023, when wholesale market 1B, located in Paraíso de la Flor, underwent a change, *E. coli* contamination was detected in 105 raw chicken samples analyzed. Of these samples, 71% did not meet the requirements established by the INEN 2346:2010 standard, while only 29% met the standard of 100 colony-forming units per gram.

In market 2 (franchise 1) located in Alborada 9th stage and in market 3 (franchise 2) located in Los Rosales 1, 133 and 132 samples were collected respectively, during the months of August to November 2023. In these samples No *E. coli* contamination was found, but Total Coliform contamination was detected.

The *E. coli* colonies extracted from the 1B market samples, which did not meet the requirements of the INEN 2346:2010 standard, were subjected to antibiogram tests to determine their minimum inhibitory concentration. The test was carried out with the antibiotic Gentamicin in an inhibition range of 39,2 µg/ml to 308 µg/ml, and sensitivity was determined to be manifest at a concentration of 130,8 µg/ml.

DEDICATORIA

"A mi esposo Edwin Tarira, por su amor incondicional, su constante apoyo y sus sacrificios que han hecho posible cada paso en mi camino académico. A mi Hija Sofia Tarira y mi Familia en general, por su aliento y comprensión en los momentos difíciles. A mis profesores y mentores, por su guía y enseñanzas que han enriquecido mi aprendizaje. Este trabajo está dedicado a todos ustedes, quienes han sido mi fuente de inspiración y motivación a lo largo de esta travesía académica."

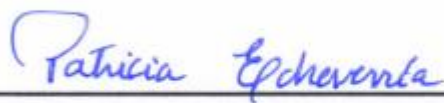
AGRADECIMIENTO

"Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que contribuyeron de manera significativa a la realización de este trabajo de investigación. En primer lugar, quiero agradecer a mi director/a de tesis por su orientación experta, su paciencia y su invaluable apoyo a lo largo de todo el proceso. Agradezco profundamente a mi familia y amigos por su constante estímulo, comprensión y motivación durante los momentos de desafío. Por último, quiero reconocer el apoyo financiero proporcionado por mi esposo Edwin Tarira, que hizo posible llevar a cabo esta investigación. Sin la ayuda y el aliento de todas estas personas, esta tesis no habría sido posible. Su contribución ha dejado una huella indeleble en este trabajo, y por eso les estoy eternamente agradecida."

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los hechos y doctrinas expuestas en este Proyecto de Titulación me corresponde exclusivamente y ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría. El patrimonio intelectual del mismo corresponde exclusivamente a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

A handwritten signature in blue ink that reads "Patricia Echeverría". The signature is written in a cursive style and is positioned above a horizontal line.

PATRICIA NATALY ECHEVERRIA ORTEGA

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN



Joel Vielma Palma, Ph.D.
DIRECTOR



Joan Vera Villalobos, Ph.D.
PRESIDENTE



César Augusto Araque Molina
EVALUADOR

ABREVIATURAS O SIGLAS

AW: La actividad de agua (aw) es una medida que indica la proporción de agua disponible en un alimento.

Canal de aves de corral. Cuerpo del animal, desangrado y desplumado al cual se le han retirado durante su faenamiento las patas, el cuello, cabeza y vísceras.

Carne congelada. Es la carne que en el centro del corte alcanza y se mantiene a una temperatura inferior a -18°C.

Carne fresca. Son tejidos musculares de animales que no han sido sometidos a procesamiento o conservación prolongada

Carne no apta para el consumo humano: La carne no apta para el consumo humano se refiere a cualquier tipo de carne que no cumple con los estándares de seguridad alimentaria establecidos

Carne. Tejidos musculares de animales que son consumidos como alimento por los seres humanos.

***E. coli* O157: H7:** Se caracteriza por su capacidad para producir una toxina llamada toxina de tipo Shiga, causa enfermedades transmitidas por alimentos.

ETA: Enfermedades transmitidas por alimentos

MCI: Concentración mínima inhibitoria

STEC: *Escherichia coli* productora de toxina de tipo Shiga

SUH: El síndrome urémico hemolítico (SUH) es una enfermedad grave que puede producirse cuando los pequeños vasos sanguíneos de los riñones se dañan e inflaman

UFC: Unidades formadoras de colonias

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Descripción del problema.....	2
1.3. Objetivos.....	5
1.3.1. Objetivo General.....	5
1.3.2. Objetivos Específicos.....	5
1.4. Hipótesis.....	6
1.5. Alcance.....	6
CAPÍTULO 2.....	8
2. MARCO TEÓRICO.....	8
2.1 <i>Escherichia coli</i> (<i>E. Coli</i>).....	8
2.2 <i>Escherichia coli</i> patógeno.....	9
2.2.1 <i>Escherichia coli</i> enteropatógena (EPEC).....	9
2.2.2 <i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica (ETEC).....	9
2.2.3. La <i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica (EHEC).....	9
2.3 Coliformes.....	10
2.3.1 Coliformes Totales.....	10
2.3.2 Coliformes Fecales.....	11
2.4 Resistencia a los antibióticos.....	11
2.5 Grupos con alto riesgo de contraer una infección por <i>E. Coli</i>	12
2.6 Prevención y control de la propagación de la resistencia a los antibióticos..	12
2.7 Síntomas.....	13
2.8 Fuentes y transmisión.....	14
2.9 Prevención.....	15
2.10 Industria.....	16
2.11 Hogares.....	17
2.12 Las directrices sobre las cinco claves para garantizar la inocuidad de los alimentos.....	17
2.13 Los agricultores que cultivan frutas y verduras.....	18
2.14 Factores de riesgo.....	18
2.14.1 Posibles alimentos contaminados.....	18
2.14.2 Pollo.....	19

2.14.3	Implicaciones para la salud humana de la resistencia bacteriana en los pollos	21
2.14.4	Formas de contaminación a través de heces en los alimentos.....	21
2.14.5	El proceso de producción de pollo con deficiencias en su higiene	22
2.14.6	Recomendaciones de consumo de pollo.....	22
2.14.7	Condiciones de vida.....	23
2.15	Determinación de coliformes totales y <i>E. Coli</i>	24
2.15.1	Bam: Enumeración de <i>E. Coli</i> y las bacterias coliformes MPN y Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria INEN 1529-6 NMP (número más probable).....	24
2.15.2	AOAC método oficial 991.14	24
2.16	Requisitos microbiológicos para la carne, aves y sus menudencias comestibles.	25
2.17	Concentración Mínima Inhibitoria.....	25
2.18	interpretación de la Concentración Mínima Inhibitoria.....	25
CAPÍTULO 3	26
3.	METODOLOGÍA.....	26
3.1	Tipo de investigación.....	26
3.1.1	Población	26
3.1.2	Muestra.....	26
3.1.3	Transporte	26
3.1.4	Técnica	27
3.2	Diseño de investigación	27
3.3	Metodología.....	27
3.3.1	Definición de variables	27
3.3.1.1	Variables independientes.....	27
3.3.1.2	Variables dependientes.....	28
3.4	Recolección de datos.....	29
3.4.1	Métodos y técnicas	30
3.4.2	Preparación de la Muestra	30
3.4.3	Inoculación.....	30
3.4.4	Incubación	30
3.4.5	Identificación de colonias	31
3.4.6	Recuento de <i>E. Coli</i>	31
3.4.7	Concentración Mínima Inhibitoria.....	31
3.4.8	Interpretación de los resultados	31
3.4.9	Reporte y Expresión de los resultados	32

3.4.10	Preparación de Diluciones para la Concentración Mínima Inhibitoria MCI	32
3.5	Recursos	33
3.5.1	Materiales y Equipos	33
3.5.2	Reactivos	33
3.5.3	Medios de cultivos	34
3.5.4	Material de referencia	34
3.6	Análisis estadístico	34
CAPÍTULO 4		35
4.	RESULTADOS	35
4.1	Selección de las muestras de alimentos crudos	35
4.2	Análisis microbiológicos para determinar la carga microbiana de <i>Escherichia coli</i> , en las muestras de alimentos crudos.	36
4.3	Estudio Comparativo	36
4.5	Control de Calidad	40
□	pH de los medios de cultivo	40
□	Control Positivo	40
□	Control de Inhibición	40
□	Control de esterilidad	40
	pH de los medios de cultivo	40
	Control de esterilidad 121 °C por 15 minutos	41
4.5.1	PREPARACION DEL CONTROL DE CALIDAD	41
CAPÍTULO 5		42
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	42
6.REFERENCIAS		43
	Apéndice A: Mercado 1A Mes: Agosto a octubre del 2023	46
	Apéndice B: Mercado 1 B Mes: Noviembre - diciembre 2023	47
	Apéndice C: Mercado 2 Mes: Agosto a septiembre 2023.	48
	Apéndice E: Análisis de Varianza de Coliformes Totales en Mercado mayorista 1B	53
	Apéndice F: Análisis de Varianza de Coliformes Totales UFC/g entre mercados al populares y de Franquicias	53
	ANEXO A: Concentración Mínima Inhibitoria (Gentamicina)	54
	Anexo B: Certificado de Material de referencia <i>Escherichia coli</i> ATCC:11229	54
	ANEXO C: Certificado de Calidad de Petrifilm <i>Escherichia coli/Coliformes Totales</i>	55
	ANEXO D: Resultados de Siembra en Petrifilm 3M de Mercado 1B	56
		57

ANEXO E: Resultados de Siembra en Petrifilm 3M de Mercado 2	57
ANEXO F: Resultados de Siembra en Petrifilm 3M de Mercado 3	57
.....	57
ANEXO G: Control POSITIVO <i>Escherichia coli</i>	58
ANEXO H: Control Inhibición <i>Estafilococos aureus</i>	58

LISTADO DE FIGURAS

<i>Fig 2.1 Familia de los Coliformes Totales, Coliformes Fecales y E coli</i>	11
.....	29
<i>Fig 3.2. Diagrama de Flujo preparación de muestra, Recuento e identificación de Escherichia coli y Coliformes Totales.</i>	29
<i>Fig. 3.3 Diagrama de flujo preparación e interpretación de la concentración mínima inhibitoria MCI.</i>	32
Fig. 4.2 MERCADO MAYORISTA 1A. Recuento de Unidades Formadoras de Colonias Coliformes totales/g.....	37
Fig. 4.3 Mercado mayorista, Unidades Formadoras de Colonias <i>E. coli</i> /g	38
<i>Figura 4.4: Esquema de preparación de las soluciones del control de calidad, para inocular un rango estimado de 15 a 60 UFC/ml.</i>	41

LISTADO DE TABLAS

TABLA I.....	8
Condiciones de desarrollo <i>Escherichia coli</i>	8
Tabla N II	25
Norma Técnica Ecuatoriana, NTE INEN 2346:2010	25
Tabla III.....	33
PREPARACION DE CONCENTRACIONES CON EL MICROORGANISMO <i>Escherichia coli</i>	33
Tabla IV.....	35
Descripción y Ubicación de los tipos de mercados en la Ciudad de Guayaquil	35
TABLA V	40
Soluciones de Concentración Mínima Inhibitoria.....	40
TABLA V	40
Control de Calidad de los medios de Cultivos.....	40

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

La seguridad alimentaria es un aspecto crítico de la salud pública, y la presencia de patógenos en productos cárnicos, como la bacteria *Escherichia coli* (*E. coli*), representa un riesgo significativo para los consumidores. La variabilidad en las condiciones de producción y distribución de alimentos, así como las diferencias entre distintos tipos de mercados, pueden influir en la concentración de contaminantes microbiológicos en diferentes tipos de alimentos crudos. [1]

Un estudio realizado en 2020 en Ecuador evaluó la resistencia a la colistina de las bacterias *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) encontrando que, para un total de 438 muestras analizadas, el 86,3% de los aislamientos correspondían a *E. coli*, mientras que el 37,4% correspondían a *K. pneumoniae*.

En cuanto a la presencia del gen *mcr-1* (mobile colistin resistance-1), relacionado con la resistencia a la colistina, se observó que estaba presente en el 90% de los aislamientos de *E. coli*. Se encontraron prevalencias más altas en los aislamientos de las regiones costeras, donde el gen estaba presente en el 96,5% de los casos. Asimismo, se observó una alta prevalencia en aislamientos de humanos, con un 95,6% y en aislamientos de pollos, con un 91,8%. [2]

La importancia de llevar a cabo una vigilancia epidemiológica de la resistencia antimicrobiana en la vida silvestre se debe a que existe un potencial de transmisión zoonótica. Además, estos hallazgos proporcionan un indicador de la resistencia antimicrobiana en el sitio de estudio y resaltan la necesidad de implementar medidas adecuadas de manejo y control de la contaminación para prevenir la propagación de cepas resistentes en el medio ambiente. [3]

Se destaca que se ha observado una estrecha relación entre los genes (mobile colistin resistance) *mcr* y la producción cárnica. Esto se debe a los altos volúmenes de antibióticos que se utilizan en la cría de animales para consumo humano. Estas prácticas contribuyen a la propagación de la resistencia antimicrobiana, ya que los genes *mcr* pueden transferirse entre diferentes cepas bacterianas, incluyendo aquellas presentes en los animales y en los humanos. [4]

El análisis de 21 genes de resistencia y la susceptibilidad a 13 antibióticos diferentes mostraron que el 91,3% de las cepas eran resistentes a tres o más antibióticos. Treinta y seis cepas pertenecían a *E. coli* patogénica extraintestinal (ExPEC). Además, el ensayo de formación de biofilms reveló que 112 cepas eran capaces de formar biofilms. [5]

Entre los años 2012 y 2016 en la ciudad de México, se obtuvieron un total de 11.740 cultivos que resultaron positivos para *E. coli*, de los cuales (3,79%) eran cepas de *E. coli* productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). El porcentaje anual de infecciones por *E. coli* productoras de BLEE varió del 1,7% al 6,5%, mostrando una tendencia creciente en el aislamiento de cepas resistentes en años más recientes. La edad promedio de los pacientes fue de 68,9 años, y no se observaron diferencias entre los sexos. Un total de 350 cultivos correspondieron a pacientes ambulatorios (78,7%), siendo el 70,5% de ellos mujeres. Los factores de riesgo más asociados con las BLEE fueron haber tenido una infección del tracto urinario (ITU) en el último año y haber recibido tratamiento con antibióticos en los últimos 3 meses. El 50% de los pacientes que habían recibido un antibiótico habían sido tratados con un beta-lactámico. [6]

1.2. Descripción del problema

Los antecedentes de este fenómeno se remontan a varios años atrás, cuando se registraron casos de intoxicación alimentaria relacionados con la presencia de *E. coli* en alimentos crudos, especialmente en aquellos adquiridos en mercados populares. Con el tiempo, se ha hecho evidente que la falta de higiene en estos lugares puede contribuir a la proliferación de bacterias patógenas en los alimentos.

En cuanto a los hechos, es necesario realizar estudios y análisis de laboratorio para evaluar la carga microbiana de *E. coli* en alimentos crudos de mercados populares y franquicias de mercado. Estos estudios pueden incluir la toma de muestras de alimentos crudos y su análisis en laboratorios especializados.

Los resultados de estos estudios pueden variar según la ubicación geográfica, el tipo de alimentos, las condiciones de almacenamiento y preparación en cada mercado. Sin embargo, algunos estudios han encontrado que los alimentos crudos comprados en mercados Populares tienen una mayor carga microbiana de *E. coli* en comparación con los alimentos comprados en supermercados de franquicias.

Es importante destacar que la evaluación de la carga microbiana de *E. coli* en alimentos crudos de mercados populares y de franquicia de mercado es un proceso continuo, ya que las condiciones y prácticas de higiene en estos lugares pueden cambiar con el tiempo. Por lo tanto, es necesario realizar estudios y análisis periódicos para evaluar la efectividad de las medidas de seguridad alimentaria implementadas en cada mercado.

Los participantes en este fenómeno son los comerciantes de alimentos crudos, así como las autoridades de salud pública encargadas de supervisar y regular la venta de alimentos en mercados populares y franquicias de mercado. También pueden participar los consumidores, que corren el riesgo de sufrir enfermedades gastrointestinales si consumen alimentos contaminados con *E. coli*.

Los lugares donde se presenta este fenómeno son los mercados populares y las franquicias de mercado que venden alimentos crudos. Las fechas varían dependiendo de la región y el contexto específico, pero se han registrado casos de intoxicación alimentaria relacionados con *E. coli* en distintos momentos y lugares.

La presencia de microorganismos patógenos en alimentos crudos representa un riesgo significativo para la salud pública. *E. coli* es una bacteria comúnmente encontrada en el tracto intestinal de humanos y animales, pero también puede ser

un patógeno alimentario que causa enfermedades gastrointestinales, incluyendo diarrea, dolor abdominal y fiebre.

La evaluación de la carga microbiana de *E. coli* en alimentos crudos puede proporcionar información valiosa sobre la seguridad alimentaria y la calidad microbiológica de los alimentos que se venden en diferentes establecimientos comerciales.

Este fenómeno se considera un problema de salud pública porque puede tener consecuencias graves para la salud de los consumidores, especialmente aquellos con sistemas inmunológicos debilitados. Además, puede generar costos significativos para el sistema de salud y reducir la confianza de los consumidores en la seguridad de los alimentos que adquieren. En general, se trata de un problema que afecta a toda la sociedad, incluyendo tanto a los consumidores como a los comerciantes de alimentos crudos y las autoridades de salud pública encargadas de garantizar la seguridad alimentaria.

Los mercados de franquicia, caracterizados por seguir protocolos y estándares específicos, podrían presentar condiciones de producción y almacenamiento que difieran significativamente de los mercados populares, donde la diversidad de proveedores y la variabilidad en las prácticas pueden ser más pronunciadas. La comprensión de estas posibles diferencias podría contribuir a desarrollar estrategias más efectivas para garantizar la seguridad de productos consumidos por la población.

En este contexto, el presente estudio se propone realizar una evaluación de la presencia de *E. coli* en muestras de carne de pollo obtenidas tanto de mercados de franquicia como de mercados populares. La comparación de estos dos entornos permitirá identificar posibles disparidades en la incidencia de *E. coli*, arrojando luz sobre la influencia de las prácticas comerciales y la estructura de mercado en la seguridad microbiológica de estos productos.

Los resultados de esta investigación no solo contribuirán al conocimiento científico actual, sino que también podrían respaldar la formulación de políticas y prácticas

más efectivas para garantizar la seguridad alimentaria en contextos diversos y dinámicos.

Los mercados populares y franquicias de mercado son lugares donde se venden grandes cantidades de alimentos crudos. En estas áreas, los alimentos se almacenan y manipulan a menudo, lo que aumenta el riesgo de contaminación microbiana. Además, la falta de higiene y el uso inadecuado de técnicas de conservación también pueden contribuir a la presencia de microorganismos patógenos en los alimentos crudos.

La evaluación de la carga microbiana de *E. coli* en alimentos crudos de mercados populares y franquicias de mercado se ha vuelto cada vez más importante debido a las preocupaciones sobre la seguridad alimentaria, por lo que es necesario contar con información precisa y confiable sobre la presencia y la cantidad de *E. coli* en estos alimentos crudos para poder tomar medidas preventivas adecuadas y reducir el riesgo de enfermedades transmitidas por los alimentos

Con base a lo expuesto, surge la siguiente pregunta de investigación

¿Cuál es la prevalencia de *Escherichia coli* en productos cárnicos en la ciudad de Guayaquil y cuál es su resistencia frente antimicrobianos comerciales?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Determinar si existe una diferencia significativa en la carga microbiana de *Escherichia coli* en alimentos crudos en mercados populares y franquicias de mercados dedicadas a la industria de carnes.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Establecer los criterios de selección de las muestras de alimentos crudos que se van a analizar, considerando factores como el tipo de alimento, la fecha de adquisición, el lugar de venta y la condición de almacenamiento.

- Realizar análisis microbiológicos para determinar la carga microbiana de *Escherichia coli*, en las muestras de alimentos crudos, utilizando métodos estándar de laboratorio.
- Comparar los resultados de los análisis microbiológicos entre los alimentos crudos de mercados populares y franquicias de mercados, utilizando pruebas estadísticas adecuadas para determinar si hay una diferencia significativa en la carga microbiana de *Escherichia coli*
- Evaluar la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Escherichia coli* con los principales antimicrobianos utilizados en el mercado ecuatoriano.

1.4. Hipótesis

La carga microbiana de *Escherichia coli* será mayor en alimentos crudos que se manejan y procesan en áreas de exposición abierta en los mercados populares en comparación con las áreas cerradas y controladas en la franquicia de mercado.

1.5. Alcance

Esta investigación tiene como objetivo principal evaluar la carga microbiana de *E. coli* en muestras de carne de pollo provenientes de mercados de franquicia y mercados populares en Guayaquil, Ecuador. La investigación se centrará en la detección y cuantificación de *E. coli*, considerando variables adicionales como la hora de adquisición de la carne, condiciones de almacenamiento y ubicación específica del mercado. El muestreo se realizará con muestras aleatorias utilizando técnicas estandarizadas, y el análisis en el laboratorio se llevará a cabo mediante métodos microbiológicos, incluyendo control de calidad. El análisis estadístico de los datos se realizará con pruebas de hipótesis. La investigación se dirigirá a consumidores, autoridades sanitarias y actores en la cadena de suministro. La

cantidad de participantes dependerá de la disponibilidad de muestras, y la investigación se llevará a cabo durante los meses de agosto hasta diciembre del 2023. El análisis se realizará con profundidad, evaluando dimensiones como la concentración en muestras positivas y posibles variaciones según la ubicación, fecha de adquisición y condiciones de almacenamiento.

CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1 *Escherichia coli* (E. Coli)

La *Escherichia coli* es una bacteria anaeróbica, pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* se encuentra en el intestino del ser humano y de los animales con torrente sanguíneo cálido. Algunas de las cepas de *E. coli* son inofensivas, algunas son productoras de la toxina *Shiga*, que causa enfermedades peligrosas por medio de los alimentos. [7]

Las condiciones de desarrollo del microorganismo *Escherichia coli* productor de toxina Shiga se da a temperaturas entre 7°C y 50°C, siendo la temperatura optima, de 37°C. Esta toxina puede estar presente en ciertos alimentos, dentro de las siguientes condiciones, tales como: proliferar en alimentos ácidos, donde pueden tener un PH de 4,4 y con una actividad de agua (aW) mínima de 0,95 [8]

TABLA I
Condiciones de desarrollo *Escherichia coli*

Variable	MÍNIMO	OPTIMO	MÁXIMO
Temperatura (°C)	7	37	50
PH	4,4	6-7	10
Actividad del Agua	0,95	0,995	-----

Este microorganismo se transmite, mediante el consumo de alimentos contaminados con materia fecal tales como; leche no pasteurizada, carne cruda, semillas y hortalizas crudas que estén contaminadas. Se puede desintegrar la toxina *Shiga*, cocinando los alimentos, hasta alcanzar temperaturas de 70°C o superiores. [8]

Uno de los problemas de salud más notable según La Organización Mundial de la Salud son las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA), esto se da en los países desarrollados y países en vías de desarrollo. La *E. coli* puede ocasionar síndrome urémico hemolítico (SUH), diarrea o colitis hemorrágica (CH). [9]

2.2 *Escherichia coli* patógeno

Fue el primer patotipo identificado y está mayormente relacionado con la ocurrencia de diarrea en niños, especialmente en regiones en vías de desarrollo.

2.2.1 *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC)

Tiene la capacidad de adherirse fuertemente a las células de la pared intestinal, causando un daño extenso a las microvellosidades y exponiendo las células intestinales subyacentes. Comúnmente conocida como la causa de la “diarrea del viajero”, Una de las manifestaciones clave de la infección incluye la presencia de diarrea líquida, la cual puede presentarse en diversos niveles de gravedad. Asimismo, es común que los niños contagiados experimenten episodios de vómitos y fiebre. El tiempo de incubación fluctúa entre 3 y 24 horas después de que la persona ingiere una cantidad significativa de bacterias entre 10^9 y 10^{10} unidades formadoras de colonias UFC. Se sostiene la hipótesis de que la cantidad de bacterias que infecta naturalmente a los niños es sustancialmente menor. [10] [11]

2.2.2 *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC)

Comúnmente conocida como la causa de la “diarrea del viajero”, también provoca diarrea en niños en países en desarrollo y se considera la principal causa de diarrea en viajeros que visitan estas regiones. el lapso de incubación abarca desde 3 hasta 24 horas, y la manifestación de diarrea podría volverse duradera, presentando síntomas adicionales como fiebre y vómitos. [12]

2.2.3. La *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC)

Identificada en 1982, puede producir diarrea sanguinolenta y se encuentra principalmente en el intestino de vacas. Existe preocupación sobre el consumo de carne poco cocida, como las hamburguesas, que podrían estar contaminadas con EHEC. [12]

Además, de estos patotipos, existen otros, como los enteroagregativos, enteroinvasivos y adherentes difusos, que afectan los intestinos. Asimismo, la *E.*

coli uropatógena y aquella asociada a la meningitis afectan el tracto urinario y las meninges, respectivamente. [10]

2.3 Coliformes

Los coliformes se derivan de la forma de *coli*, haciendo referencia a la bacteria principal en este grupo, la *Escherichia coli*, identificada por el bacteriólogo alemán *Theodor von Escherich* en 1860. *Von Escherich* la nombró como *bacterium coli* ("bacteria del intestino" en griego, kolon, significa "intestino"). La designación genérica "coliformes" engloba a un conjunto de especies bacterianas que comparten ciertas características bioquímicas y tienen una relevancia significativa como indicadores de contaminación en agua y alimentos. [13]

Este grupo de bacterias coliformes se compone de cuatro géneros ampliamente reconocidos: *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Citrobacter*. Desde el punto de vista bioquímico, las bacterias coliformes comparten propiedades como ser aerobias o anaerobias facultativas, bacilos Gram negativos, negativas para la oxidasa, no esporógenas y capaces de fermentar la lactosa a 35 °C en 48 horas, produciendo ácido láctico y gas. [13]

Tradicionalmente, los coliformes han sido considerados indicadores de contaminación fecal en la calidad del agua destinada al consumo humano, ya que son más resistentes en medios acuáticos que las bacterias patógenas intestinales. Su presencia indica la seguridad bacteriológica del agua, y su número es proporcional al grado de contaminación fecal. [13]

2.3.1 Coliformes Totales

Este grupo abarca diversas bacterias con forma bacilar, Gram negativas y anaerobias facultativas. Aunque incluye géneros que pueden ser patógenos para los humanos, también hay bacterias inocuas. Estas bacterias son útiles como indicadores de contaminación o limpieza del agua, siendo un excelente indicador de la contaminación por materia fecal, a mayor presencia de coliformes, mayor gravedad e intensidad de la contaminación. [13]

2.3.2 Coliformes Fecales

Se definen como aquellos que fermentan la lactosa a 44,5 – 45,5°C, lo que descarta a *Enterobacter*. La prueba positiva para coliformes fecales sugiere un 90% de probabilidad de que la bacteria aislada sea *E. coli*. La presencia de coliformes en el suministro de agua indica la posible contaminación con aguas negras u otros desechos en descomposición, siendo común encontrar estas bacterias en plantas, suelos y animales, incluyendo humanos. [14]

Esquema de los Coliformes

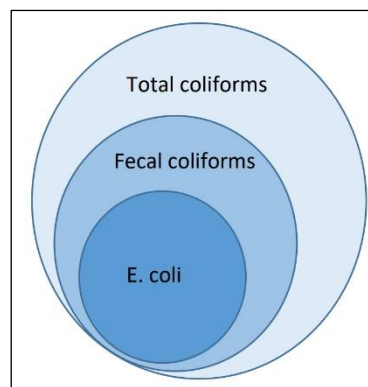


Fig 2.1 Familia de los Coliformes Totales, Coliformes Fecales y *E coli*

2.4 Resistencia a los antibióticos

Los medicamentos antimicrobianos, como los antibióticos, desempeñan un papel crucial en el tratamiento de infecciones bacterianas. No obstante, su uso excesivo o inadecuado tanto en la medicina humana como veterinaria se ha asociado con la aparición y difusión de bacterias que desarrollan resistencia. Esta resistencia bacteriana reduce la efectividad de los tratamientos para enfermedades infecciosas, tanto en animales como en seres humanos. La entrada de bacterias resistentes a la cadena alimentaria a través de los animales, por ejemplo, cepas de *Salmonella* transmitidas por aves como el pollo, es un factor relevante. La resistencia a los medicamentos antimicrobianos representa una de las mayores amenazas para la práctica médica contemporánea [15]

En todo el mundo, estamos enfrentando un aumento alarmante en la resistencia a los antibióticos. Cada día emergen y se propagan en distintos puntos del globo nuevos mecanismos de resistencia que comprometen nuestra capacidad para combatir enfermedades infecciosas comunes. Un número creciente de enfermedades, como neumonía, tuberculosis, septicemia, gonorrea y enfermedades transmitidas por alimentos se están volviendo cada vez más difíciles, e incluso en ocasiones imposibles, de tratar debido a la disminución en la eficacia de los antibióticos [16]

Donde quiera que los antibióticos estén disponibles sin receta, tanto para uso humano como veterinario, la farmacorresistencia tiende a empeorar y extenderse. En naciones sin pautas estandarizadas para su uso, tanto el personal médico como veterinario tiende a recetarlos con mayor frecuencia, y la población general a consumirlos en exceso. Sin medidas urgentes, nos encaminamos hacia una era post-antibióticos en la que enfermedades comunes y lesiones menores podrían volver a representar un riesgo potencialmente mortal. [17]

2.5 Grupos con alto riesgo de contraer una infección por *E. Coli*

Aunque cualquier individuo puede enfermarse por la bacteria *E. coli*, existen ciertos grupos con una mayor susceptibilidad a la infección. Estos incluyen:

- Individuos adultos de 65 años o más.
- Niños menores de 5 años.
- Personas con un sistema inmunitario comprometido, como mujeres embarazadas.
- Aquellos que viajan a regiones específicas. [18]

2.6 Prevención y control de la propagación de la resistencia a los antibióticos

El ámbito agrícola tiene la capacidad de:

- Administrar medicamentos antibióticos a los animales únicamente bajo la supervisión y pautas proporcionadas por un veterinario profesional.

- Evitar el uso de antibióticos con el propósito de fomentar el crecimiento o prevenir enfermedades en animales que no requieran tratamiento médico.
- Dando prioridad a la vacunación de los animales como una forma de disminuir la necesidad de antibióticos, además de utilizar alternativas siempre que sea posible.
- Fomentar e implementar estrategias efectivas en todas las etapas de producción de alimentos, tanto en la producción animal como vegetal.
- Mejorar la bioseguridad en las granjas agrícolas, destacando la importancia de la higiene y el bienestar de los animales como medidas preventivas para evitar la aparición de infecciones. [19]

2.7 Síntomas

Los síntomas de la enfermedad ocasionada por la bacteria *E. coli* que produce la toxina Shiga abarcan calambres abdominales, diarrea que en algunos casos puede progresar a diarrea con presencia de sangre (llamada colitis hemorrágica), fiebre y episodios de vómitos. Por lo general, el período de incubación varía entre tres y ocho días, con una media típica de tres a cuatro días. La mayoría de las personas se recuperan en un lapso de alrededor de diez días; no obstante, en una minoría de casos, especialmente en niños pequeños y adultos mayores, la infección puede desencadenar una enfermedad grave y potencialmente fatal denominada síndrome hemolítico urémico (SHU). [8]

El SHU se caracteriza por la presencia simultánea de fallo renal repentino, anemia hemolítica y disminución de plaquetas en la sangre (una reducción en el número de plaquetas en la sangre).

Alrededor del 10% de quienes contraen *E. coli* que produce la toxina *Shiga* pueden sufrir este síndrome, con una tasa de mortalidad que oscila entre el 3 y el 5%. Globalmente, el SHU representa la principal razón de insuficiencia renal súbita en los niños pequeños a nivel mundial.

En aproximadamente el 25% de las personas que padecen el SHU, pueden presentarse problemas neurológicos tales como convulsiones, accidentes cerebrovasculares y períodos de coma.

Asimismo, alrededor del 50% de los que superan la enfermedad pueden experimentar complicaciones renales crónicas, por lo general de intensidad leve.

Aquellas personas que experimenten diarrea con presencia de sangre o fuertes calambres abdominales deben buscar asistencia médica.

Es relevante destacar que los antibióticos no deben formar parte del tratamiento para la enfermedad originada por la *E. coli* que produce la toxina *Shiga*, ya que podrían aumentar la probabilidad de desarrollar el SHU más adelante. [8]

Un 5 al 10% de las personas diagnosticadas con un tipo específico de *E. coli*, denominado *E. coli O157* productor de la toxina de *Shiga*, pueden desarrollar el SHU, una forma de insuficiencia renal que puede ser mortal. [18]

2.8 Fuentes y transmisión

La mayor parte de la información disponible sobre la *E. coli* que produce la toxina *Shiga* se enfoca en el serotipo O157: H7 debido a su marcada diferencia bioquímica en comparación con otras variedades de *E. coli*. Este tipo de bacteria se encuentra principalmente en el ganado vacuno, siendo su principal fuente.

Además de los bovinos, se cree que otros rumiantes como ovejas, cabras y ciervos también son reservorios relevantes. Se ha registrado la existencia de esta infección en varios mamíferos, incluyendo cerdos, caballos, conejos, perros y gatos, así como en aves como pollos y pavos [8]

La principal vía de transmisión de *E. coli O157: H7* a los seres humanos es a través del consumo de alimentos contaminados, como la carne molida cruda o mal cocida, así como la leche que no ha pasado por el proceso de pasteurización. La presencia de contaminación fecal en el agua y otros alimentos, además de la contaminación cruzada durante la manipulación de alimentos (mediante el contacto con carne de vacuno u otros productos cárnicos, utensilios y superficies contaminadas), también puede desencadenar infecciones. Se han reportado brotes de *E. coli O157: H7* relacionados con alimentos como hamburguesas poco cocidas, salami curado, sidra fresca no pasteurizada, yogur y queso elaborado con leche cruda [8]

Un aumento en la incidencia de brotes se ha asociado con el consumo de frutas y vegetales, como coles de Bruselas, espinacas, lechugas y diversas ensaladas, que

han sido contaminadas debido al contacto con heces de animales, tanto domésticos como salvajes, durante su cultivo o manejo. La presencia de *E. coli* productora de toxina *Shiga* ha sido detectada en fuentes de agua como estanques, arroyos, pozos y abrevaderos. [8]

Se ha notado su habilidad para mantenerse viable durante períodos prolongados en el estiércol y los sedimentos presentes en depósitos de agua. Además, se han documentado situaciones en las que la transmisión se ha producido a través del agua, ya sea por beberla directamente o al participar en actividades recreativas en aguas que están contaminadas. [8]

El contacto directo entre personas representa una vía significativa de transmisión a través de la boca y heces. Se han registrado situaciones en las que hay individuos portadores asintomáticos, es decir, aquellos que no presentan síntomas de la enfermedad, pero pueden contagiar a otros. [8]

La duración típica de la presencia de *E. coli* productora de toxina *Shiga* suele ser de aproximadamente una semana o menos en adultos, aunque en niños puede prolongarse por un período más largo. Además, las visitas a granjas y otros entornos donde el público tiene contacto directo con el ganado se han señalado como un factor de riesgo significativo para la infección por esta bacteria [8]

2.9 Prevención

Para prevenir la infección, es necesario aplicar medidas de control en todas las etapas de la cadena alimentaria, desde la producción agrícola en las granjas hasta la manipulación, fabricación y preparación de alimentos en cocinas, tanto en establecimientos comerciales como en hogares. [20]

- Lave sus manos adecuadamente con agua y jabón para mantener una higiene óptima.
- Siga los principios básicos de seguridad alimentaria al manipular alimentos: limpieza, separación, cocción y refrigeración.
- Utilice un termómetro específico para alimentos para asegurarse de que la carne alcance una temperatura interna segura.

- Cocine la carne molida de res, cerdo y cordero a una temperatura interna mínima de 160°F (70°C). Para verificar la temperatura de las hamburguesas, inserte el termómetro desde el lado hasta el centro del alimento.
- Asegúrese de que los filetes y la carne de res asada alcancen al menos 145°F (62,6°C) en la parte más gruesa. Permita que la carne repose durante 3 minutos después de retirarla de la parrilla o la estufa
- Evite la contaminación cruzada lavando minuciosamente las manos y limpiando superficies y utensilios con agua y jabón después de manipular carne cruda.
- No beba agua sin tratar y evite su consumo mientras nada o juega en lagos, estanques, arroyos, piscinas o piscinas portátiles para niños.
- Prefiera leche y jugos pasteurizados.
- Al viajar al extranjero, tome precauciones adicionales con el agua y los alimentos.
- Para prevenir riesgos, absténgase de consumir masa o mezclas que no han sido cocidas adecuadamente [18]

2.10 Industria

Se ha sugerido que se podría disminuir la incidencia de la enfermedad mediante estrategias paliativas en la producción de carne picada, como realizar una selección previa de los animales antes del sacrificio para reducir la presencia de agentes patógenos en el entorno del matadero. Aunque la adopción de prácticas higiénicas durante el sacrificio contribuye a minimizar la contaminación de las carcasas por heces, no se puede garantizar la completa ausencia de *E. coli* productora de toxina *Shiga* en los productos resultantes. [8]

La formación en prácticas higiénicas alimentarias es fundamental para los trabajadores en granjas, mataderos y en toda la cadena de producción de alimentos, ya que contribuye a reducir la contaminación microbiológica. No obstante, el único método verdaderamente efectivo para eliminar la *E. coli* productora de toxina *Shiga* de los alimentos es mediante tratamientos bactericidas, como la aplicación de calor (mediante la cocción o pasteurización) o la irradiación. [8]

2.11 Hogares

Las tácticas dirigidas a evitar la infección por *E. coli* O157: H7 guardan similitudes con las pautas empleadas en la prevención de otras enfermedades transmitidas por alimentos.

Las claves para mantener la inocuidad de los alimentos abarcan

- Mantener la higiene en los espacios de manipulación de alimentos, así como en las manos y los utensilios usados durante su preparación.
- Separar cuidadosamente los alimentos crudos de los cocidos para evitar el contacto entre aquellos que se consumen crudos y los que requieren cocción.
- Garantizar una cocción completa de los alimentos para alcanzar temperaturas que eliminen posibles microorganismos perjudiciales.
- Almacenar los alimentos correctamente a temperaturas seguras para prevenir el crecimiento bacteriano.
- Utilizar agua y materias primas que sean seguras y estén libres de contaminantes, verificando su calidad
- Emplear agua y materias primas libres de contaminación y asegurar su calidad mediante una verificación exhaustiva. [8]

2.12 Las directrices sobre las cinco claves para garantizar la inocuidad de los alimentos

Son aplicables a nivel mundial, especialmente la que se refiere a la cocción total, asegurando que el interior de los alimentos alcance al menos 70°C. Es esencial realizar una limpieza minuciosa de frutas y verduras, especialmente aquellas que se consumen crudas; cuando sea posible, se aconseja pelarlas. Las personas más vulnerables, como los niños pequeños y los adultos mayores, deben evitar consumir carnes crudas o poco cocidas, así como productos lácteos no pasteurizados o hechos con leche sin tratar. Es fundamental el lavado frecuente de manos, sobre todo antes de manejar o consumir alimentos, y después de usar el baño, especialmente para aquellos que cuidan de niños pequeños, adultos mayores o personas con sistemas inmunitarios debilitados. Esto se debe a que la bacteria puede propagarse de persona a persona, así como a través de alimentos, agua y contacto directo con animales.

Se han documentado varios casos de infecciones por *E. coli* que produce toxina *Shiga* asociados con la exposición en aguas recreativas. Por lo tanto, es fundamental proteger tanto estas aguas para recreación como las fuentes de agua potable, evitando la contaminación con desechos de animales. [8]

2.13 Los agricultores que cultivan frutas y verduras

Estos reciben orientación a través de la guía de la Organización Mundial de la Salud (OMS) llamada “Cinco claves para el cultivo seguro de frutas y verduras”. Esta guía está dirigida a los agricultores rurales que cultivan estos alimentos para consumo propio, venta en mercados locales o para abastecer a sus familias, enfatizando prácticas esenciales para prevenir la contaminación microbiana de productos frescos desde la siembra hasta la cosecha, e incluye pautas para el almacenamiento. [8]

2.14 Factores de riesgo

2.14.1 Posibles alimentos contaminados

Una amplia variedad de alimentos puede ser portadora de *E. coli* patógena, cada uno en relación con su propio entorno. Estos alimentos pueden ser contaminados durante el proceso de crecimiento y cosecha (productos agrícolas), recolección (leche) o sacrificio (carne). La contaminación adicional puede ocurrir durante la manipulación posterior a la cosecha, transporte, procesamiento y prácticas poco higiénicas durante la preparación de alimentos. [21]

Factores que contribuyen a la persistencia de *E. coli* en los sistemas alimentarios incluyen una gestión inadecuada de los parámetros de procesamiento, como la temperatura de cocción, el PH, la actividad del agua y el almacenamiento a temperaturas cálidas por períodos prolongados que propician su crecimiento. La contaminación con *E. coli* 0157:H7 puede ocurrir a través de interacciones entre los dominios animal, humano, agrícola y medioambiental. Ejemplos de alimentos contaminados abarcan la carne cruda o poco procesada (como carne molida poco cocida, carne fermentada, entre otros), productos lácteos no pasteurizados (queso, leche), jugos de frutas sin pasteurizar y verduras crudas (lechuga, espinacas, melón, champiñones, semillas germinadas, entre otros). [22]

La *E. coli* puede impactar a cualquier persona expuesta a esta bacteria, aunque ciertos individuos presentan una mayor susceptibilidad a desarrollar complicaciones. Entre los factores de riesgo se incluyen:

- **Edad:** Los niños pequeños y los adultos mayores enfrentan un riesgo más elevado de contraer enfermedades provocadas por la *E. coli* y pueden experimentar complicaciones más graves a causa de la infección.
- **Sistemas inmunitarios debilitados:** Aquellas personas con sistemas inmunitarios debilitados, ya sea por el VIH/SIDA, tratamientos contra el cáncer o medicamentos utilizados para evitar el rechazo de órganos trasplantados, tienen mayor probabilidad de enfermarse tras la exposición a la *E. coli*.
- **Alimentos:** Las hamburguesas poco cocidas, la leche, el jugo de manzana o sidra no pasteurizados, así como los quesos blandos elaborados con leche cruda, son alimentos con mayor riesgo de transmitir la bacteria.
- **Reducción de los niveles de ácido estomacal:** El ácido gástrico brinda cierta protección contra la *E. coli*. Si se emplean fármacos para reducir la acidez estomacal, como esomeprazol (Nexium), pantoprazol (Protonix), lansoprazol (Prevacid) y omeprazol (Prilosec), es probable que aumente el riesgo de contraer infecciones por *E. coli*.

La época del año también puede influir, aunque no se comprende completamente, la mayoría de las infecciones por *E. coli* en los Estados Unidos suelen ocurrir entre junio y septiembre. [8]

2.14.2 Pollo

Animales destinados para consumo humano, tales como bovinos, porcinos, ovinos, caprinos, aves de corral, cobayos, conejos y otras especies autorizadas, son aquellos criados bajo supervisión veterinaria o zotécnica acreditada, y son sacrificados en plantas de faenamiento autorizadas. Estos animales deben cumplir con las normativas de movilización, poseer registros de salud verificables y cumplir

con las Buenas Prácticas Pecuarias. Además, su alimentación debe excluir nutrientes de origen rumiante, y el transporte desde los centros de producción debe garantizar el bienestar animal. [23]

Previo al faenamiento en el matadero, se debe verificar la salud de los animales basándose en documentos, registros veterinarios o zootécnicos de las fincas de crianza, así como realizar una inspección veterinaria en vivo (inspección ante mortem). Es fundamental que los animales hayan pasado un período de descanso adecuado, cuya duración dependerá de la especie, para reducir la presencia de contenido fecal. [23]

Las prácticas involucradas en la manipulación, sacrificio, procesamiento y distribución deben cumplir con los estándares del Reglamento de buenas prácticas de manufactura para alimentos procesados. El sacrificio debe llevarse a cabo en instalaciones designadas con la infraestructura adecuada para evitar la contaminación de la carne y en cumplimiento con las regulaciones establecidas en la Ley de mataderos. Las canales y órganos comestibles, antes de salir de las plantas de sacrificio, deben someterse a una inspección posterior al sacrificio para asegurar su aptitud para el consumo humano. Es esencial mantener la carne y los órganos comestibles bajo una cadena de frío desde las plantas de sacrificio hasta su venta. Además, de estas regulaciones, la carne y sus partes comestibles deben cumplir con todas las disposiciones establecidas en las leyes nacionales aplicables, como la Ley de Mataderos, la Ley Orgánica de la Salud y sus respectivos reglamentos. La conservación de la carne a temperaturas superiores a -18°C disminuye su vida útil.

En cuanto a su valor nutricional, el pollo contiene aproximadamente 145 kilocalorías por cada 100 gramos de porción comestible con piel. La producción de carne de pollo se lleva a cabo durante un periodo de siete semanas, desde la primera hasta la séptima, momento en el cual el pollo alcanza un peso promedio vivo de 4,5 libras (hembras y machos). [23]

La Organización Mundial de la Salud (OMS) emitió una advertencia sobre las graves implicaciones para la salud humana debido al uso incorrecto de antibióticos en las granjas avícolas. Esta práctica ha resultado en una notable resistencia a los medicamentos utilizados para combatir bacterias como *E. coli* y *Salmonella spp.* a gran escala. [8]

2.14.3 Implicaciones para la salud humana de la resistencia bacteriana en los pollos

En Ecuador, la ingeniera de alimentos Geovanna Amancha realizó un estudio en colaboración con la iniciativa de investigación y capacitación SORT IT del Programa Especial de Investigación y Capacitación en Enfermedades Tropicales de la OMS, UNICEF, PNUD y el Banco Mundial, con respaldo de la OPS. Este estudio reveló que una vez que los pollos desarrollan resistencia a estas bacterias, dicha resistencia puede transmitirse al ser humano cuando consume estos pollos. [24]

La OMS declaró: “Se suministran antibióticos en la comida de los animales para prevenir infecciones, tratarlas y estimular su crecimiento”.

La organización advierte que el abuso y la sobreutilización de antibióticos en la alimentación de aves de corral conlleva al surgimiento de bacterias resistentes a los medicamentos, las cuales pueden ser transmitidas a las personas, generando un riesgo para la salud pública. [24]

2.14.4 Formas de contaminación a través de heces en los alimentos

La transmisión de *E. coli* patógena a través de los alimentos presenta una epidemiología variada en todo el mundo. En entornos con deficiencias en saneamiento e higiene, suelen ser comunes las variantes enterotoxigénicas (ETEC), enteroinvasivas (EIEC) y enteropatógenas (EPEC) de *E. coli*. Estas cepas pueden adquirirse mediante el consumo de alimentos y agua contaminados, así como por contaminación cruzada a través del contacto directo con humanos. Curiosamente, la presencia de *E. coli* patógena transmitida por alimentos se ha observado incluso en comunidades con sistemas más avanzados de saneamiento e higiene, aunque los patotipos pueden variar (como STEC, EHEC y *E. coli* enteroagregativa). Las vías de transmisión suelen incluir productos agrícolas, alimentos crudos o mal procesados, contacto con estiércol animal, agua

contaminada y contaminación cruzada entre alimentos sin procesar. La bacteria *E. coli* patógena se excreta en las heces de individuos enfermos o sanos, con rumiantes y vida silvestre actuando como posibles reservorios para algunas cepas (como STEC y ECEH), mientras que para otros patotipos el huésped humano puede ser más relevante. La diseminación amplia de materia fecal humana y animal en entornos agrícolas y periurbanos puede conducir a la presencia potencial de estas bacterias en áreas utilizadas para la producción de alimentos, como estiércol animal, aguas residuales, entornos agrícolas contaminados por actividades humanas y animales, suelos tratados con estiércol y agua contaminada. [25]

2.14.5 El proceso de producción de pollo con deficiencias en su higiene

En el proceso industrializado de producción de carne de pollo, las etapas de sacrificio, despiece y faenado se realizan mecánicamente, lo que puede ocasionar la contaminación del alimento con restos intestinales. Según el estudio de la Organización de Consumidores y Usuarios OCU sobre la carne de pollo, se detectó contaminación fecal en más del 80% de las muestras analizadas. [26]

Además, se investigó la presencia de *Estafilococos*, *Salmonella* y *Campylobacter*, bacterias con serios riesgos para la salud humana y estrechamente relacionadas con la carne de pollo. La presencia de *Salmonella* es mínima y se elimina con la cocción adecuada del producto. El *Estafilococos*, que se encuentra en la piel de los pollos, y el *Campylobacter* se mantienen bajo control en estas condiciones. [26]

2.14.6 Recomendaciones de consumo de pollo

- Compre la carne de pollo al final de sus compras antes de salir de la tienda.
- Use una bolsa térmica para transportar el pollo y evitar que se rompa la cadena de frío.
- Si no va a consumir la carne en 24-36 horas, es preferible congelarla.
- Guarde el pollo en un recipiente separado y colóquelo en la parte más fría de la nevera para evitar el contacto con otros alimentos.
- Cocine el pollo adecuadamente para destruir las bacterias y, una vez cocido, no lo deje a temperatura ambiente para prevenir la reproducción de bacterias.

Puede guardar la carne cocinada en el refrigerador por un máximo de 2 días, asegurándose de calentarla adecuadamente antes de consumirla

2.14.7 Condiciones de vida

Las condiciones de vida en estas instalaciones suelen ser de hacinamiento, donde los pollos se apiñan unos sobre otros, impidiendo que estos animales inteligentes puedan llevar a cabo comportamientos naturales como explorar, asearse con baños de polvo o posarse en áreas elevadas. Estas jaulas se caracterizan por la alta densidad de población, la ausencia de luz natural y un rápido crecimiento y engorde, lo que ocasiona estrés, cojeras y diversas enfermedades. Muchos pollos enferman hasta el punto de no poder mantenerse en pie. A pesar de que la mayoría de las aves que se encuentran en los restaurantes provienen de este tipo de lugares, algunas compañías aún no muestran interés en mejorar la situación de estos animales.

Los pollos han estado presentes en la convivencia humana durante más de 5.000 años y son seres curiosos y activos que disfrutan explorando, escarbando, picoteando y aseándose en polvo. Investigaciones demuestran que los pollos son capaces de sentir empatía, dolor y estrés. Sin embargo, lamentablemente, muchos de ellos viven en condiciones de hacinamiento y en entornos inhóspitos, privados de luz natural en las granjas industriales. [27]

Se estima que alrededor de 40 mil millones de pollos en todo el mundo viven en condiciones desfavorables en granjas industriales cada año. Estos pollos apenas alcanzan unos 40 días de vida antes de ser sacrificados, permaneciendo en espacios confinados y sin luz natural. Están genéticamente seleccionados para un rápido crecimiento, lo que ejerce presión en su salud, causándoles dolor crónico, problemas en la piel y en las patas, e incluso insuficiencia cardíaca.

A pesar de conocer estas condiciones, los pollos que se utilizan en cadenas de comida rápida como KFC, McDonald's y Burger King provienen de estos entornos desfavorables. Por esta razón, la organización global World Animal Protection se involucra en investigaciones sobre el bienestar de estos pollos criados para

consumo humano. Como parte de su iniciativa Change for Chickens, han creado un "Ranking de empresas sobre el bienestar de los pollos" con el fin de desafiar a la industria de la comida rápida a detener la crueldad en la producción de carne de pollo a nivel mundial y buscar proveedores que garanticen el bienestar animal en lugar de utilizar granjas industriales. [27]

2.15 Determinación de coliformes totales y *E. Coli*

Para realizar la determinación de *E. Coli* en alimentos, existen varias referencias de métodos Oficiales, entre ellos tenemos los siguientes: Manual de Análisis Bacteriológico (BAM), Official Methods of Analysis (AOAC), Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN 1529-8).

2.15.1 Bam: Enumeración de *E. Coli* y las bacterias coliformes MPN y Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria INEN 1529-6 NMP (número más probable)

La determinación del número más probable de microorganismos *Escherichia coli* se realiza a partir de tubos positivos de la prueba presuntiva y se fundamenta en la capacidad de las bacterias para fermentar la lactosa y producir gas cuando son incubados a una temperatura de $44,5 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ por un periodo de 24 a 48 horas. Este método es más largo en la determinación de *E. coli*, al mismo tiempo es más sensible, porque detecta hasta < 3 unidades formadoras de colonia ufc/ g. [28]

2.15.2 AOAC método oficial 991.14

La determinación de coliformes totales *Escherichia coli* son colonias de bastoncillos Gram-negativos que producen ácido y gas de la lactosa durante la fermentación metabólica de la lactosa. Las colonias coliformes, que crecen en la Placa Petrifilm EC, producen un ácido que causa el oscurecimiento del gel por el indicador de PH. El gas atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirma su presencia. Incubando a $48 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ a $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Este método es solo recuento, y solo puede detectar < 10 unidades formadoras de colonia ufc/g. [29]

2.16 Requisitos microbiológicos para la carne, aves y sus menudencias comestibles.

Tabla II
Norma Técnica Ecuatoriana, NTE INEN 2346:2010

	n	c	m	M	Método de ensayo
<i>Escherichia coli</i> ufc/g	5	2	$1,0 \times 10^2$	$1,0 \times 10^3$	N TE INEN 1 529-8

n= número de unidades de la muestra

c = número de unidades defectuosas que se aceptan

m = nivel de aceptación

M = nivel de rechazo. [30]

2.17 Concentración Mínima Inhibitoria

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) representa la mínima cantidad de un antibiótico requerida para detener el crecimiento bacteriano en condiciones estandarizadas. En los laboratorios de referencia, se emplean sistemas automatizados para calcular las CMI. Estos métodos de prueba de sensibilidad cuantitativa contribuyen a identificar qué tipo de antibiótico es más efectivo contra una cepa bacteriana específica. [31]

2.18 Interpretación de la Concentración Mínima Inhibitoria

Sensible (S): Indica que el microorganismo no puede crecer a la concentración sérica del fármaco que se logra con la dosis estándar.

Intermedia (I): Sugiere que el crecimiento solo se inhibe a la dosis máxima recomendada.

Resistente (R): Señala que el microorganismo es capaz de resistir los niveles normales del fármaco en la sangre [31]

CAPÍTULO 3

3. METODOLOGÍA

3.1 Tipo de investigación

El presente trabajo involucra una investigación aplicada del tipo cuantitativa basada en el método científico con un enfoque evaluativo que involucra la medición y el análisis de datos, esta se define de manera clásica como una investigación experimental, en donde se evalúan la presencia y cantidad de *E. Coli* en muestras de pollo en dos grupos de trabajo (mercados populares y mercados de franquicia) y la recolección de la muestra se realiza de manera aleatoria, variando los supermercados y el periodo de recolección.

3.1.1 Población

Se consideró tres mercados en la ciudad de Guayaquil-Ecuador, uno de ellos es el mercado al populares ubicado en el Túnel del Paraíso de Flor, y dos mercados de franquicias que se encargan de la venta de carnes específicamente y que son de renombre y reconocidos en la ciudad, el primero ubicado en La Alborada novena etapa entre la calle Isidro Ayora y la Avenida Benjamín Carrión Mora y el segundo ubicado en Los Rosales 1, Avenida principal.

3.1.2 Muestra

Se seleccionó de manera aleatoria, para garantizar una representación equitativa en los tipos de establecimientos, se realizó el muestreo en horas de la mañana donde hay mayor cantidad de las personas para adquirir la carne de pollo.

Se realizó la correcta identificación de la proteína cruda, diferenciándolo por cada tipo de establecimiento, tomando en cuenta, el día de muestreo. Se adquirió 1 kilo de proteína, una considerable cantidad para obtener una muestra representativa y significativa.

3.1.3 Transporte

Las muestras fueron transportadas en una hielera térmica flexible marca Coleman, capacidad de 5 litros, para mantener la cadena de frio hasta llegar al laboratorio

acreditado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano, en donde se realizaron los análisis, el laboratorio está ubicado en el cantón Duran a unos 30 minutos aproximadamente de la ciudad de Guayaquil.

Al llegar al laboratorio, las muestras fueron codificadas colocando número de muestra para evitar conflictos de intereses en el tratamiento de la muestra.

3.1.4 Técnica

Para el análisis del patógeno *E. coli*, se utilizó el método AOAC 991.14, ampliamente utilizado en todo el mundo y reconocido por su precisión y fiabilidad.

3.2 Diseño de investigación

El diseño de investigación para el estudio experimental busca determinar la influencia de los mercados al populares y de franquicia en la carga bacteriana de *E. coli* en muestras de pollo. En este trabajo, se empleará un enfoque experimental en el que los supermercados se asignarán aleatoriamente a dos grupos: uno que involucra ventas al populares y dos de franquicias. Se recopilarán muestras representativas de pollo de los tres grupos y se analizará la presencia y cantidad de *E. coli*. La variable independiente será el tipo de mercado (Populares o de franquicia), mientras que la carga bacteriana de *E. coli* será la variable dependiente. Se implementarán medidas estandarizadas de muestreo y manipulación de alimentos en ambos grupos para controlar posibles variables externas. Los resultados de este diseño permitirán evaluar de manera rigurosa la relación causal entre el tipo de supermercado y la carga bacteriana de *E. coli* en el pollo, contribuyendo así a la comprensión de los factores que pueden afectar la seguridad alimentaria en entornos comerciales.

3.3 Metodología

3.3.1 Definición de variables

3.3.1.1 Variables independientes

- **Tipo de mercado**

Populares y franquicias

- **Ubicación de los Mercados:**

Norte de la Ciudad de Guayaquil, Ecuador.

- **Origen de Carne:**

Carne de pollo cruda recolectada en los diferentes mercados, tanto Populares como de franquicia.

- **Prácticas de Manipulación:**

Existen diferencias en las prácticas de manipulación de la carne de pollo entre los mercados al populares y de franquicia.

3.3.1.2 Variables dependientes

- Conteo de unidades formadoras de colonias (UFC)
- Turbidez en las diferentes concentraciones de las soluciones del ensayo.,
Concentración Mínima Inhibitoria (MCI)

3.4 Recolección de datos

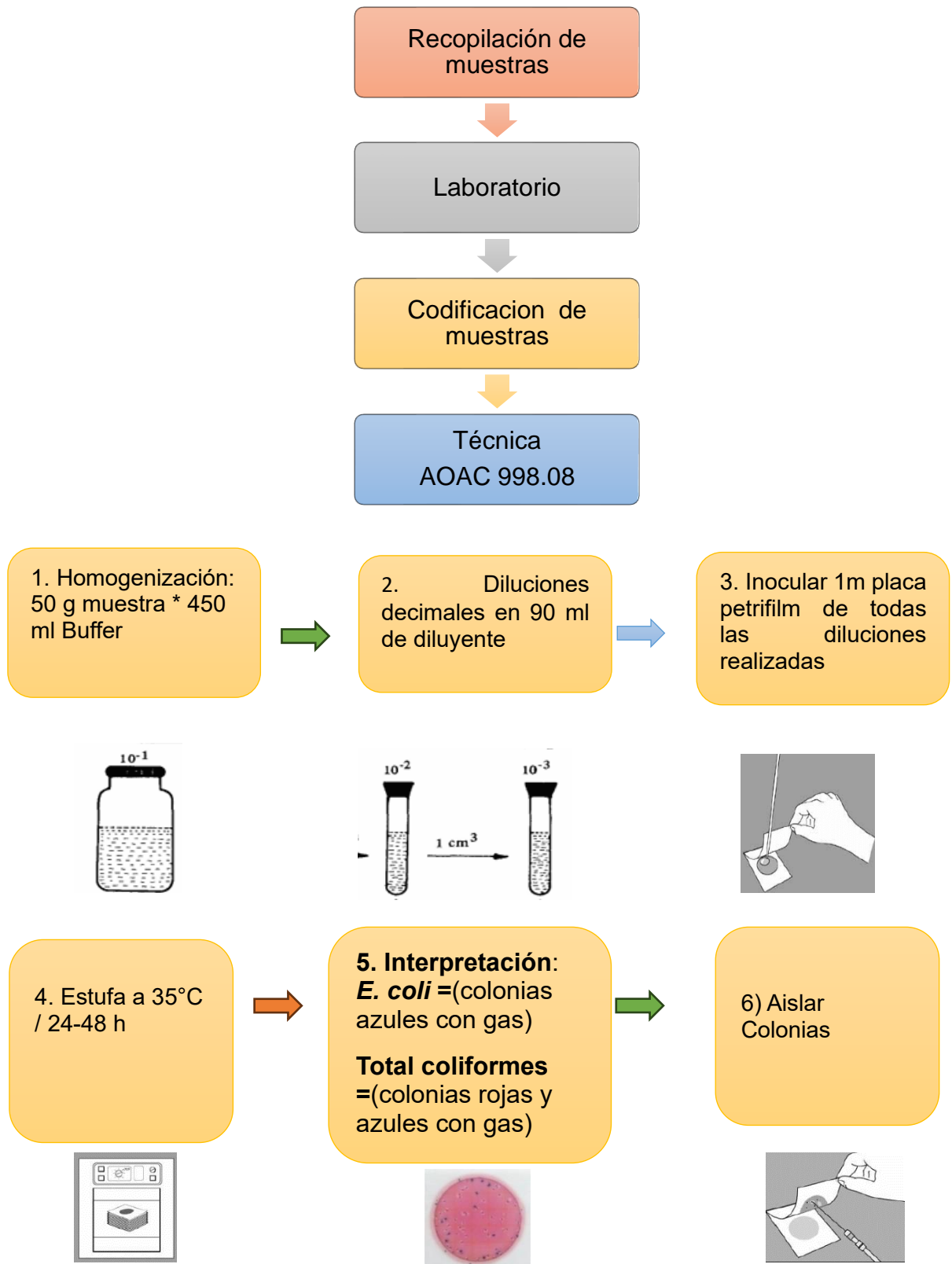


Fig 3.2. Diagrama de Flujo preparación de muestra, Recuento e identificación de *Escherichia coli* y Coliformes Totales.

3.4.1 Métodos y técnicas

3.4.2 Preparación de la Muestra

En un vaso de licuadora estéril se colocó una cantidad significativa de la muestra a analizar, luego se pesaron 50 gramos de la muestra en una funda *Stomacher*, posteriormente se agregaron 450 mL de una solución buffer o tampón de fosfato de Butterfield y se mezcló durante 2 min. Luego se procedió a ajustar el PH de la muestra entre 6,6 y 7,2, con una solución 1 N de NaOH o HCl, dependiendo de la necesidad. Luego se agitó para homogenizar la muestra 25 veces en un arco de 30 cm o se mezcló en un vórtex durante 7 segundos. Finalmente se prepararon diluciones decimales usando como disolvente fosfato de Butterfield estéril. El número de diluciones a preparar depende de la densidad de coliformes prevista.

3.4.3 Inoculación

Se colocó la Placa Petrifilm dentro de la cabina de flujo laminar en la superficie plana y nivelada, se rotularon las muestras, colocando la siguiente información: número de muestra, la dilución y fecha de siembra. Posteriormente, se levantó la película superior de la Placa Petrifilm en forma perpendicular, se inoculó 1 mL de la dilución de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior, con una pipeta, se bajó con cuidado la película superior de la Placa Petrifilm para evitar que atraparan burbujas de aire y evitando dejarla caer, luego con el dispersor, se colocó del lado liso hacia abajo sobre el inoculo, se evitó girar y deslizar el dispersor.

3.4.4 Incubación

Se colocaron las placas Petrifilm en posición horizontal, con el lado transparente hacia arriba, por 24 ± 2 h a $35 \pm 1^\circ\text{C}$., sin exceder a 20 unidades en cada grupo. Al término de la incubación, las placas se almacenaron a temperaturas $\leq 15^\circ\text{C}$ durante 7 días. Se utilizó el contador de colonias para determinar la carga microbiana del patógeno en las muestras.

3.4.5 Identificación de colonias

Para realizar el conteo de las colonias en las placas de petrifilm se consideró y se diferenció el tipo de colonias para su reporte correcto.

Los Coliformes Totales se aprecian como colonias rojas que tienen una o más burbujas de gas asociadas. Finalmente se contaron las colonias dentro del rango contable (15 a 150 colonias).

3.4.6 Recuento de *E. Coli*

Estas aparecen como colonias azules asociadas con burbujas de gas. Las colonias fueron aisladas para su posterior identificación, levantando la película superior y tomando la colonia del gel.

3.4.7 Concentración Mínima Inhibitoria

Para determinar la concentración mínima inhibitoria de un antibiótico frente a una bacteria determinada se preparó una serie de tubos con el medio de cultivo líquido, Muller Hinton Broth.

- Se tomó el número de tubos dependiendo de la concentración a realizar.
- Se preparó cada concentración
- Se rotuló cada tubo con el número de muestra, el nombre del microorganismo, la concentración y la fecha de realización
- Se adicionaron 100µl de cada concentración en cada uno de los tubos.
- Asimismo, un tubo se rotuló como blanco, ya que no contenía la muestra, solo el medio de cultivo más el microorganismo
- Una vez preparados todos los tubos se les adicionó 0,1 ml de inóculo, de tal forma que la concentración final estuviera comprendida entre 1 y 5×10^5 ufc/ml
- Los tubos se incubaron durante 24 horas a 37°C.

3.4.8 Interpretación de los resultados

Tras 24 h de incubación se observa la turbidez existente en cada uno de los tubos inoculados y se considera crecimiento en todos aquellos tubos en donde se aprecie turbidez, aunque no sea tan intensa como en el tubo control. Se considera que no hay crecimiento en aquellos tubos en donde no se observa turbidez. La

Concentración Mínima Inhibitoria (MCI) de un antibiótico frente a una determinada bacteria será la más diluida de todos los tubos en donde no se observa ningún crecimiento. El tubo control que contiene el medio de cultivo más el microorganismo debe estar turbio.

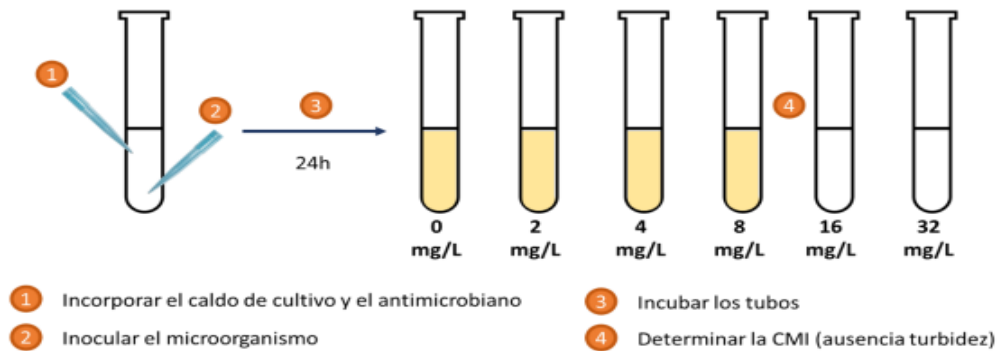


Fig. 3.3 Diagrama de flujo preparación e interpretación de la concentración mínima inhibitoria MCI.

3.4.9 Reporte y Expresión de los resultados

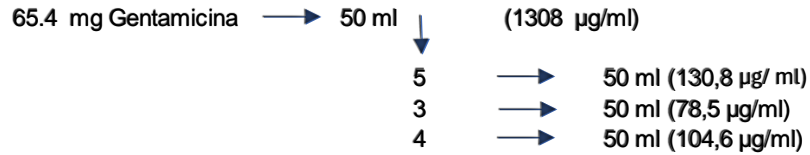
- ✓ Exprese resultados de los ensayos en mcg/ml o kg/l.
- ✓ Reporte la MCI por cada microorganismo y la concentración, la cantidad del microorganismo inoculado.

3.4.10 Preparación de Diluciones para la Concentración Mínima Inhibitoria MCI

A partir del estándar de 65,4 mg de la materia prima de Gentamicina, se preparó una solución madre de 1,3008 mg/ml de la cual se prepararon 5 soluciones más, todas enrasadas con la solución de Buffer PH 8.

Tabla III
PREPARACION DE CONCENTRACIONES CON EL MICROORGANISMO *Escherichia coli*

Concentracion de la Materia Prima Gentamicina 65.4 mg



3.5 Recursos

3.5.1 Materiales y Equipos

- Balanza gramera (marca Ohaus, modelo PX2202 y capacidad 2.200g)
- Incubadora de 35°C ± 1°C (marca memmert y modelo IF30)
- Cabina Flujo Laminar Vertical (marca Biobase clase II A11)
- Stomacher 400 Capacidad 80 a 400 ml
- Licuadora y vaso de la licuadora (marca Oster 3 velocidades y modelo 4655)
- Potenciómetro (marca Oakton y modelo WD-35419-12)
- Contador de colonias de Quebec, o equivalente, con lupa (marca y modelo)
- Difusor de plástico.
- Pipetas graduadas estériles 10,0 ml
- Pipetas automáticas de 100 µl
- Matraces 50 ml, 100 ml, 250 ml
- Utensilios estériles para manipulación de muestras (cuchara, cuchillo, tijeras)
- Frascos de dilución fabricados en vidrio de borosilicato
- Tubos de vidrio

3.5.2 Reactivos

- NaOH 1 N
- H₂SO₄ 1N

3.5.3 Medios de cultivos

- Fosfato de Butterfield (pH No Aplica)
- Placas de Petrifilm
- Caldo de Mueller-Hinton (pH $7,3 \pm 0,2$)
- Buffer pH 8
- Plate Count Agar APC (pH $7,0 \pm 0,2$)

3.5.4 Material de referencia

- *Escherichia coli* ATCC: 11229
- *Staphylococcus aureus* ATCC: 6538
- Materia prima Gentamicina

3.6 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando Excel, para comparar la carga microbiana entre el mercado populares y los de franquicia se realizó una prueba t de Student comparando el valor de p con el nivel de significancia 0,05 para dos muestras independientes para comparar las medias de dos grupos diferentes, tomado en cuenta las siguientes dos hipótesis:

- Hipótesis Nula (H_0): No hay diferencias significativas en la cantidad media de bacterias de *E. coli* entre los mercados populares y los mercados de franquicia.
- Hipótesis Alternativa (H_1): Existen diferencias significativas en la cantidad media de bacterias de *E. coli* entre los mercados populares y mercados de franquicia.

CAPÍTULO 4

4. RESULTADOS

4.1 Selección de las muestras de alimentos crudos

Se consideró la carne de pollo, porque es una de las proteínas que se consume a diario en los hogares, hospitales, y en los diferentes Cattering, debido a su alto contenido en proteínas, nutrientes y vitamina y sobre todo de menor significancia económica.

Se realizó el muestreo de la carne de pollo en la ciudad de Guayaquil en el año 2023, en 3 sectores diferentes, Los cuales se identificaron de la siguiente manera:

Tabla IV
Descripción y Ubicación de los tipos de mercados en la Ciudad de Guayaquil

	Tipo	Ubicación
Mercado 1	Mayorista	Túnel del Paraíso de Flor
Mercado 2	Franquicia 1	Alborada novena etapa entre la calle Isidro Ayora y la Avenida Benjamín Carrión Mora
Mercado 3	Franquicia 2	Los Rosales 1, Avenida principal.

Mercado 1: Se realizó el muestreo de la proteína en horas de la mañana, donde hay mayor aglomeración de personas, que realizan sus compras.

Tipo de conservación: La proteína se encontraba expuesta al ambiente, sostenidas con un gancho de metal, sin ningún tipo de protección y cobertura, y a la vista de todos los usuarios.

Mercado 2: Se realizó el muestreo dentro del establecimiento, donde se tiene un ambiente controlado, y se encuentra expuesta para la manipulación del consumidor final.

Tipo de conservación: vitrina de vidrio en refrigeración,

Mercado 3: Se realizó el muestreo dentro del establecimiento donde se tiene un ambiente controlado, la manipulación de la proteína es únicamente del operador del establecimiento.

Tipo de conservación: Congelada.

4.2 Análisis microbiológicos para determinar la carga microbiana de *Escherichia coli*, en las muestras de alimentos crudos.

Se llevaron a cabo pruebas microbiológicas con el propósito de evaluar la cantidad de *Escherichia coli* presente en las muestras de alimentos crudos, utilizando técnicas de laboratorio reconocidas.

- Se realizó el adecuado muestreo en la zona Norte de Guayaquil, en varios mercados donde se comercializa carne de pollo sin cocinar, las muestras se trasladaron en una hielera. Con el fin de preservar la integridad de la cadena de frío y evitar la multiplicación de bacterias.
- Posteriormente, las muestras fueron enviadas al laboratorio de microbiología, certificado por el SAE, ubicado en el cantón de Durán.
- Las muestras se sometieron a un método de análisis rápido y eficiente que pudo detectar la presencia de *E. coli* a una concentración superior a 10 Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por gramo en un lapso de 48 horas. El procedimiento empleado para identificar la presencia de *E. coli* en alimentos crudos es el método oficial y estandarizado descrito en el libro AOAC 991.14 (Official Methods of Analysis).

4.3 Estudio Comparativo

Se realizó el estudio de 418 muestras de carne de pollo crudo, los resultados se observan en los apéndices A hasta la D.

4.3.1 Mercado mayorista 1A UFC/g Coliformes totales.

Se llevó a cabo una investigación durante los meses de agosto, septiembre y octubre de 2023 en un mercado Populares situado en el norte de Guayaquil, en el Km 8 ½ de la vía a Daule. Durante este periodo se recolectaron un total de 48 muestras. Los resultados del análisis indicaron únicamente la presencia de contaminación por Coliformes totales.

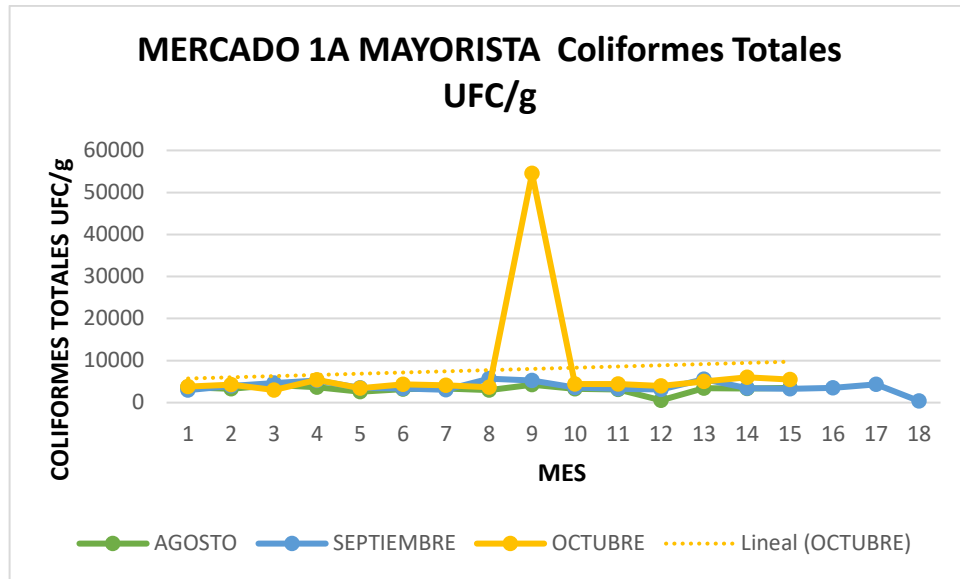


Fig. 4.2 MERCADO MAYORISTA 1A. Recuento de Unidades Formadoras de Colonias Coliformes totales/g

Se rechaza la hipótesis Nula H_0 , porque no hay diferencia significativa en las muestras de pollo crudo, dando como resultado $p= 0,188$ siendo mayor a la probabilidad del 95 % dentro de los 3 meses,

Se realizó un nuevo muestreo durante los siguientes meses del año 2023, Estos son noviembre y diciembre, Obteniendo un total de 105 muestras,

Se pudo encontrar el patógeno a estudiar *E. coli*, en todas las muestras que fueron muestreadas,

Durante los meses de noviembre y diciembre del año 2023, se recolectaron 105 muestras en el mercado Mayorista 1B, Los resultados revelaron que el 71% de las muestras recolectadas no cumplían con los requisitos permitidos por el INEN, siendo 100 UFC/g de *E. coli* lo máximo permitido, Por otro lado, el 29% sí cumplían con los requisitos para el consumo,

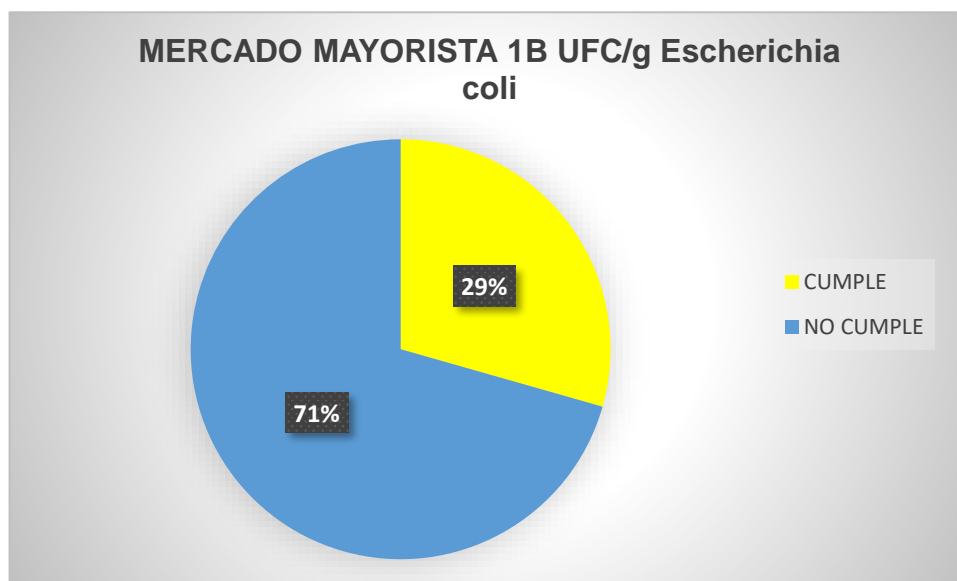


Fig. 4,3 Mercado mayorista, Unidades Formadoras de Colonias *E. coli*/g

4,3,2 Variabilidad de Coliformes Totales UFC/g entre mercados al populares y dos de franquicias

Se realizó el estudio en 3 mercados diferentes durante los meses de octubre hasta diciembre del 2023, obteniendo un total de 418 muestras,

Se pudo detectar, que en el mercado 1B, se identificó coliformes totales y *Escherichia coli* y en los mercados 2 y 3 en los meses de estudio, se detectó únicamente contaminación de Coliformes totales UFC/g,

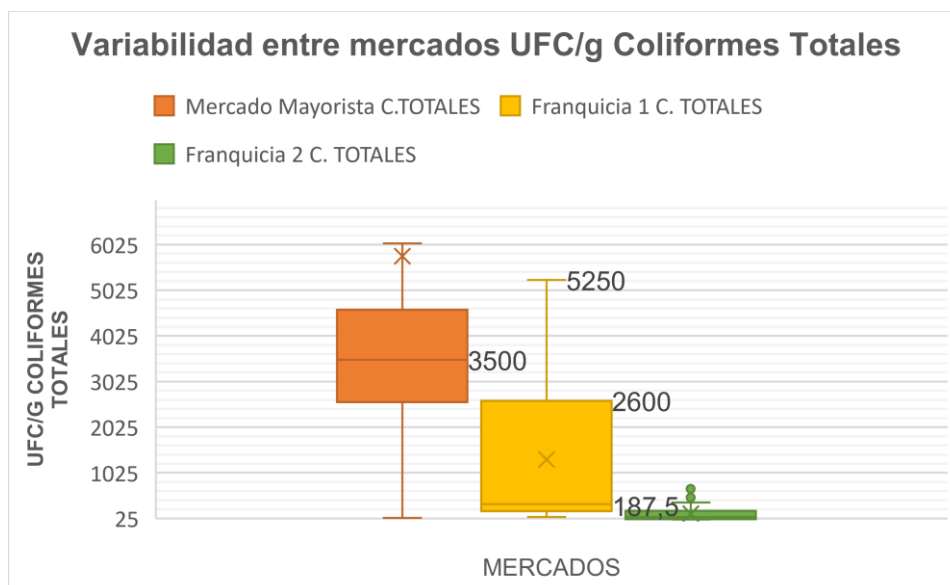


Fig. 4,4 Variación de Coliformes totales entre mercados mayorista y Franquicias,

Se evaluó el valor F calculado (52,37227942) es mayor que el valor crítico de la prueba F (3,017461808), podemos concluir que se rechaza la hipótesis nula, En otras palabras, hay evidencia suficiente para afirmar que hay una diferencia significativa entre los grupos en el análisis estadístico que se está llevando a cabo,

4.4 Resistencia antimicrobiana de las cepas de *Escherichia coli*

Se realizó un antibiograma sobre las cepas aisladas de E.coli de las muestras de pollo recolectadas entre noviembre y diciembre del 2024 utilizando gentamicina, encontrándose un rango de inhibición entre 7,8 µg/ml a 308 µg/ml, como se muestra en la tabla V y la MCI fue de 130 µg/ml, Al comparar este resultado con estudios realizados previamente en donde se demuestra que la MCI de gentamicina sobre cepas de E, coli oscila entre 8 y 32 µg/ml; por lo que se concluye que las cepas encontradas en este estudio han desarrollado resistencia frente a este fármaco,

TABLA V
Soluciones de Concentración Mínima Inhibitoria

MCI antibiótico: Gentamicina		
Tubos	Concentración	Resultado
1	Blanco	Resistente
2	7,8 µg/ ml	Resistente
3	15 µg/ ml	Resistente
4	26,2 µg/ ml	Resistente
5	39,2 µg/ ml	Resistente
6	52,32	Resistente
7	78,4	Resistente
8	104,6	Resistente
9	130,8 µg/ ml	Sensible
10	308,0 µg/ ml	Sensible

4.5 Control de Calidad

Se realizó el control de calidad a todos los medios de cultivos utilizados para realizar los ensayos de investigación, Se controlaron los siguientes parámetros:

- pH de los medios de cultivo
- Control Positivo
- Control de Inhibición
- Control de esterilidad

TABLA V
Control de Calidad de los medios de Cultivos

pH de los medios de cultivo		
Medio de Cultivo	Resultado	Cumple/No Cumple
Caldo Miuller Hilton	7,35	Cumple
Buffer	7,21	No Aplica
Buffer pH 8	8	Cumple
Plate Cound Agar	7,19	Cumple
Control positivo		
Medio de Cultivo	Turbidez/Crecimiento	Microorganismo
Caldo Miuller Hilton	Turbio	<i>Escherichia coli</i> , <i>S. aureus</i>
Placas Petrifilm <i>Escherichia coli</i>	57/ 61	<i>Escherichia coli</i>

Control de Inhibición			
Medio de Cultivo	Crecimiento	Microorganismo	
Placas Petrifilm <i>Escherichia coli</i>	0/0	<i>S.aureus</i>	
Control de esterilidad 121 °C por 15 minutos			
Medio de Cultivo	Temperatura	Resultado	Cumple/No Cumple
Buffer	35°C/ 48 h	No Crecimiento	Cumple
Buffer pH 8	35°C/ 48 h	No Crecimiento	Cumple
Caldo Miuller Hilton	37°C/ 24 h	No turbio	Cumple

4.5.1 PREPARACION DEL CONTROL DE CALIDAD

Mc Farland: Microorganismo: *E.coli*, *S aureus*

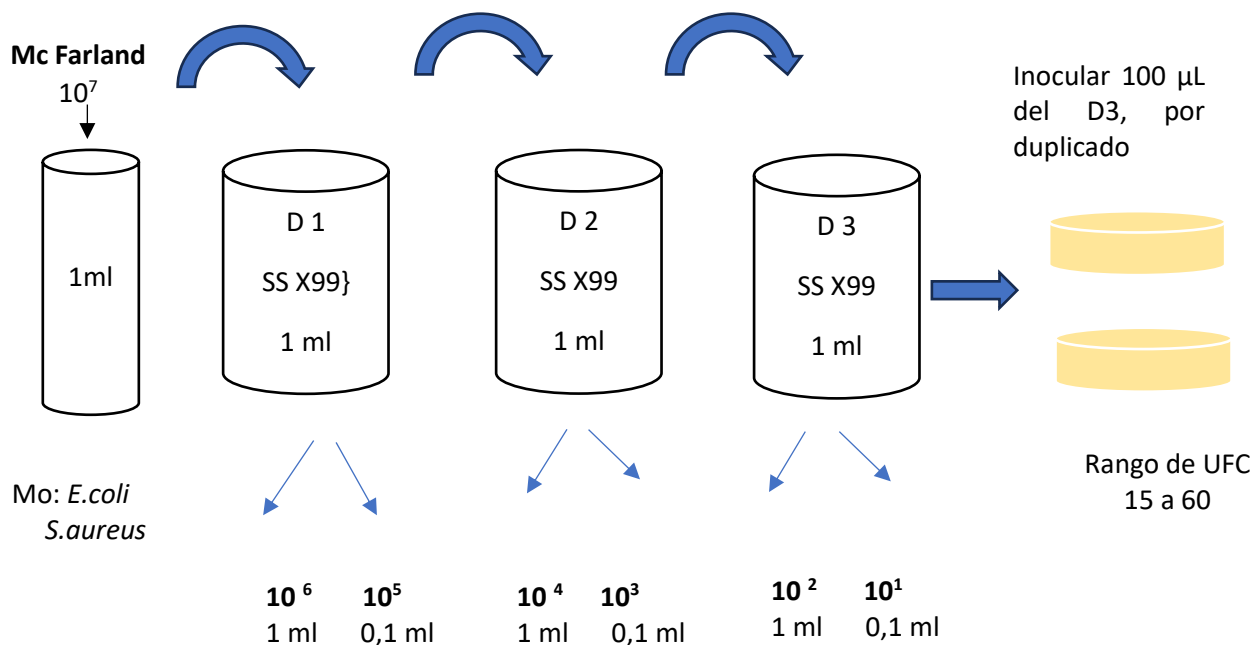


Figura 4.4: Esquema de preparación de las soluciones del control de calidad, para inocular un rango estimado de 15 a 60 UFC/ml,

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones:

1. Se recolectaron muestras en el mercado 2 y 3 durante los horarios disponibles del establecimiento, asegurando que la conservación de las proteínas estuviera adecuadamente resguardada. Por otro lado, en el mercado 1, las muestras se recolectaron por la mañana, exponiéndolas al ambiente y dejando la conservación de la proteína al azar
2. En los mercados de franquicia 1 y 2, no se detectó la presencia de *E.coli*. Sin embargo, si se detectó en el mercado popular, el 71% de las muestras de carne de pollo no cumplen con el límite de 100 UFC/g establecido por la norma NEN 1 529-8, mientras que solo el 29% sí cumple.
3. No se encontró una diferencia significativa entre el mercado 1 y 3. En contraste, sí se observó una diferencia significativa en el mercado 2.
4. La *E.coli* recuperada en los mercados populares exhibe una resistencia antimicrobiana para el antibiótico gentamicina, con una concentración mínima inhibitoria de 130,8 ug/ml.

Recomendaciones:

- ✓ Implementar con otros grupos de antibióticos el monitoreo y la evaluación de la resistencia microbiana.
- ✓ Investigar otros tipos de patógenos, en las carnes crudas, que puedan causar daño al consumidor final.
- ✓ Evaluar el impacto en el consumidor final frente a la contaminación por el consumo de carne contaminada

6. REFERENCIAS

- [1] OMS, «Inocuidad de los alimentos,» 30 Abril 2020. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>. [Último acceso: 15 Noviembre 2023].
- [2] Carlos Bastidas-Caldes, «National Library of Medicine,» 19 Abril 2023. [En línea]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10105605/>. [Último acceso: 26 Abril 2023].
- [3] Haro León, «Resistencia antimicrobiana en aislados fecales de Escherichia coli,» Napo-Ecuador, 2020.
- [4] A. Márquez, D. Ortega-Paredes, E. Fernández-Moreira y C. Vinueza Burgos, «Prevalencia de Escherichia coli resistente a colistina y cefalosporinas de tercera generacion aisladas de cascaras y ciegos de pollos Broiler en Quito-Ecuador,» Quito-Ecuador, 2020, p. 84.
- [5] Shudi Huang, Peng Tian, Xiaomeng Kou, Ning An, Yushuang Wu, Juan Dong, Huixue Cai, Baokun Li, Yawen Xue, Yuezhang Liu, Hua Ji, «The prevalence and characteristics of extended-spectrum β -lactamase,» *International Journal of Food Microbiology*, Noviembre 2022.
- [6] Laura Barrios, Anna Sánchez, Paula Ponce, Bárbara Gomila, Rosa Monsonis, María Barrios, Carlos Di Capua, «Infecciones del tracto urinario producidas por Escherichia coli resistentes a betalactamasas en un hospital terciario de España,» Mexico, 2019.
- [7] Rípodas Navarro, «Investigación de Escherichia Coli productor de toxinas Shiga (STEC) en carnes y derivados cárnicos,» Septiembre 2017. [En línea]. Available: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1887-85712017000300147. [Último acceso: 20 Octubre 2023].
- [8] OMS, «Organizacion Mundial de la Salud,» 07 Febrero 2018. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [9] Vélez, «Revista Argentina de Microbiología,» Enero- Marzo 2023. [En línea]. Available: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754122000268>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [10] Dres. Gustavo Varel, «Escherichia coli enteropatógeno clásico,» Septiembre 2007. [En línea]. Available: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-03902007000300004. [Último acceso: 21 Octubre 2023].
- [11] «Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli,» Septiembre 2002. [En línea]. Available: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342002000500011. [Último acceso: 13 Diciembre 2023].
- [12] Ana Elvira Farfán-García, Sandra Catherine Ariza-Rojas, Fabiola Andrea Vargas-Cárdenas y Lizeth Viviana Vargas-Remolina, «Mecanismos de virulencia de Escherichia coli enteropatógena,» Agosto 2016. [En línea]. Available: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182016000400009. [Último acceso: 21 Diciembre 2023].
- [13] López, «Coliformes,» 3 Agosto 2023. [En línea]. Available: <https://www.lifeder.com/coliformes/>. [Último acceso: 14 11 2023].

- [14] INEN, «CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS.» 1990. [En línea]. Available: <https://ia803007.us.archive.org/22/items/ec.nte.1529.8.1990/ec.nte.1529.8.1990.pdf>. [Último acceso: 24 Noviembre 2023].
- [15] «Organización Mundial de la Salud,» 17 Noviembre 2021. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [16] OMS, «Organización Mundial de la Salud,» 31 Julio 2020. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [17] OMS, «Organización Mundial de la Salud,» 17 Noviembre 2021. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [18] Enfermedades, «La E. coli y la seguridad de los alimentos,» 9 Agosto 2022. [En línea]. Available: <https://www.cdc.gov/foodsafety/es/communication/ecoli-and-food-safety.html>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [19] OMS, «Resistencia a los antibióticos,» 20 Noviembre 2015. [En línea]. Available: <https://www.who.int/es/news-room/commentaries/detail/how-to-stop-antibiotic-resistance-here-s-a-who-prescription#:~:text=Agricultores%20y%20dem%C3%A1s%20trabajadores%20del%20sector%20agr%C3%ADcola%20Aseg%C3%BArese, tratamiento%20de%20enfermedades%20infecci>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [20] Ruth M. Carrico, P. M. F.-B. Hudson Garret, D. A. Dawn Balcom y P. R. M. C. F. y Janet Burton Glowicz, «Prevención de infecciones y prácticas fundamentales de control: guía para la práctica de enfermería,» 24 Septiembre 2019. [En línea]. Available: <https://www.elsevier.com/es-es/connect/prevencion-de-infecciones-y-practicas-fundamentales-de-control-guia-para-la-practica-de-enfermeria>. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [21] Sergio Sánchez, «Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica,» Junio-Julio 2010. [En línea]. Available: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-aspectos-clinicos-patogenicos-las-infecciones-S0213005X09003668>. [Último acceso: 20 Octubre 2023].
- [22] FoodSafety, «La E. coli y la seguridad de los alimentos,» [En línea]. Available: <https://espanol.foodsafety.gov/blog/e-coli-and-food-safety>. [Último acceso: 22 Octubre 2023].
- [23] INEN, «Carne y Menudencia comestible de animales de Abasto,» de *Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN 2346:2010*, Ecuador , 2010, pp. 1,2.
- [24] OPS, «Ecuador protege la salud humana al restringir el uso de antibióticos para el crecimiento de pollos,» Agosto 2023. [En línea]. Available: <https://www.paho.org/es/historias/ecuador-protege-salud-humana-al-restringir-uso-antibioticos-para-crecimiento-pollos>. [Último acceso: 24 Octubre 2023].
- [25] OMS, «promover la salud mediante la disminución de la contaminación microbiana,» [En línea]. Available: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://iris.who.int/bitstream/10665/75960/1/9789243504001_spa.pdf?ua=1. [Último acceso: 24 Octubre 2023].

- [26] OCU, «Pollo: guía para elegir y conservar,» 01 Enero 2011. [En línea]. Available: <https://www.ocu.org/alimentacion/carnes-pescados/consejos/pollo-guia-para-elegir-y-conservar>. [Último acceso: 28 Octubre 2023].
- [27] Ecoportal, «Realidad detrás de los pollos,» 4 Febrero 2020. [En línea]. Available: <https://www.ecoportal.net/temas-especiales/pollo-consumo-humano/>. [Último acceso: 22 Octubre 2023].
- [28] R. Blodgett, «BAM: Número más probable de diluciones en serie,» 21 06 2020. [En línea]. Available: <https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions>. [Último acceso: 12 11 2023].
- [29] «AOAC Official Method 991.14 Coliform and Escherichia coli Counts in Food,» p. 1053 al 1057.
- [30] INEN, CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS, Ecuador, 1990.
- [31] «Idexx,» Junio 2022. [En línea]. Available: https://www.idexx.com/media/filer_public/9a/96/9a96e4f7-8127-4306-981a-c60920f092f6/mic-guia-microbiologica-es.pdf.
- [32] Hernández-Zamora, «Boletín Médico del Hospital Infantil de México,» de *Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento*, Mexico, 2018, pp. 79, 80.
- [33] Silvestre Ortega Peña, «Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento,» Marzo-Abril 2018. [En línea]. Available: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462018000200079. [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [34] María E. Cáceres, «Efectos del medio de cultivo y de la metodología aplicada sobre la formación de biopelículas de 2 cepas de Escherichia coli diarreagénicas,» 8 Abril 2018. [En línea]. Available: [chrome-extension://efaidnbnmnnibpcjpcglclefindmkaj/http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v51n3/v51n3a04.pdf](http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v51n3/v51n3a04.pdf). [Último acceso: 10 Octubre 2023].
- [35] María Luisa de Curtis, «Determinación de la calidad microbiológica de alimentos servidos en comedores de empresas privadas,» Junio 2000. [En línea]. Available: https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-0622200000200011. [Último acceso: 2023].

7. Apéndices y Anexos

Apéndice A: Mercado 1A Mes: Agosto a octubre del 2023

Recoleccion De Muestras							
Ubicación:		Km 8 1/2 Via a Daule Coop Juan Montalvo					
Tipo de mercado:		Al mayoreo					
Meses de analisis:		AGOSTO A OCTUBRE 2023					
Matriz:		Carne de Pollo crudo					
Presentacion:		Pollo fresco					
Analisis:		Se realiza por duplicado					
DATOS PRIMARIOS							
LECTURAS OBTENIDAS (UFC /g)							
Categoria:		Carne de pollo					
Ubicación:		Km 8 1/2 Via a Daule Coop Juan Montalvo					
Mes:		AGOSTO A SEPTIEMBRE 2023					
Requisitos:		100 UFC/g					
Total de Muestra:		48					
MERCADO SAN JACINTO DIRECCION JUAN MONTALVO							
	Diluciones	Coliformes totales UFC		E.coli UFC		Promedio C.T UFC	Promedio: Ecoli UFC
AGOSTO	100	38	36	0	0	3700	0
	100	30	35	0	0	3250	0
	100	43	41	0	0	4200	0
	100	36	38	0	0	3700	0
	100	23	29	0	0	2600	0
	100	33	31	0	0	3200	0
	100	32	35	0	0	3350	0
	100	30	29	0	0	2950	0
	100	44	41	0	0	4250	0
	100	35	31	0	0	3300	0
	100	29	34	0	0	3150	0
	10	57	54	0	0	555	0
	100	37	32	0	0	3450	0
	100	36	31	0	0	3350	0
100	32	38	0	0	3500	0	
SEPTIEMBRE	100	29	31	0	0	3000	0
	100	37	43	0	0	4000	0
	100	49	44	0	0	4650	0
	100	54	52	0	0	5300	0
	100	38	32	0	0	3500	0
	100	36	31	0	0	3350	0
	100	28	33	0	0	3050	0
	100	60	54	0	0	5700	0
	100	53	52	0	0	5250	0
	100	38	34	0	0	3600	0
	100	35	31	0	0	3300	0
	100	29	34	0	0	3150	0
	100	57	54	0	0	5550	0
	100	37	32	0	0	3450	0
100	34	31	0	0	3250	0	
100	32	38	0	0	3500	0	
100	42	45	0	0	4350	0	
10	36	42	0	0	390	0	
Octubre	100	38	38	0	0	3800	0
	100	45	41	0	0	4300	0
	100	29	31	0	0	3000	0
	100	53	56	0	0	5450	0
	100	37	32	0	0	3450	0
	100	43	44	0	0	4350	0
	100	44	39	0	0	4150	0
	100	37	36	0	0	3650	0
	1000	56	53	0	0	54500	0
	100	42	47	0	0	4450	0
	100	46	42	0	0	4400	0
	100	36	44	0	0	4000	0
	100	47	53	0	0	5000	0
	100	62	59	0	0	6050	0
100	53	57	0	0	5500	0	

Apéndice B: Mercado 1 B Mes: Noviembre - diciembre 2023

Recoleccion De Muestras								
Ubicación:	Túnel del Paraíso de Flor							
tipo de mercado:	Al mayoreo							
Meses de analisis:	Noviembre - Diciembre 2023							
Matriz:	Carne de Pollo crudo							
Presentacion:	Pollo fresco							
Analisis:	Se realiza por duplicado							
DATOS PRIMARIOS								
LECTURAS OBTENIDAS (UFC /g)								
Categoria: Carne Pollo Cruda								
Ubicación:	MERCADO TUNEL PARAISO DE LA FLOR							
Mes:	NOVIEMBRE							
Requisitos:	100 UFC/g							
Total de Muestra	54							
	Diluciones	Coliformes Totales		E.coli UFC		Promedio C.T UFC	Promedio: Ecoli UFC	
		UFC	UFC	UFC	UFC			
Noviembre	10	39	37	11	14	380	125	NO CUMPLE
	1000	10	12	5	9	11000	7000	NO CUMPLE
	10	54	51	5	9	525	70	CUMPLE
	100	28	23	1	3	2550	200	NO CUMPLE
	100	49	52	3	4	5050	350	NO CUMPLE
	100	43	41	9	11	4200	1000	NO CUMPLE
	100	45	46	10	7	4550	850	NO CUMPLE
	1000	8	10	3	5	9000	4000	NO CUMPLE
	100	43	41	3	5	4200	400	NO CUMPLE
	1000	15	18	5	4	16500	4500	NO CUMPLE
	100	42	47	5	7	4450	600	NO CUMPLE
	100	37	39	9	12	3800	1050	NO CUMPLE
	100	34	32	5	8	3300	650	NO CUMPLE
	100	48	46	2	5	4700	350	NO CUMPLE
	1000	39	43	11	7	41000	9000	NO CUMPLE
	1000	18	16	3	2	17000	2500	NO CUMPLE
	100	10	18	2	4	1400	300	NO CUMPLE
	1000	11	9	1	2	10000	1500	NO CUMPLE
	100	26	27	8	7	2650	750	NO CUMPLE
	1000	13	9	3	1	11000	2000	NO CUMPLE
	100	36	35	10	13	3550	1150	NO CUMPLE
	100	32	36	10	11	3400	1050	NO CUMPLE
	100	25	21	1	2	2300	150	NO CUMPLE
	100	45	43	6	10	4400	800	NO CUMPLE
	100	35	37	4	6	3600	500	NO CUMPLE
	1000	16	17	2	1	16500	1500	NO CUMPLE
	100	32	35	6	7	3350	650	NO CUMPLE
	1000	12	15	2	3	13500	2500	NO CUMPLE
	100	22	27	3	4	2450	350	NO CUMPLE
	100	36	35	4	7	3550	550	NO CUMPLE
	100	21	25	2	4	2300	300	NO CUMPLE
	100	36	31	6	5	3350	550	NO CUMPLE
	100	46	43	12	7	4450	950	NO CUMPLE
	1000	9	8	1	1	8500	1000	NO CUMPLE
	1000	9	13	2	3	11000	2500	NO CUMPLE
	1000	10	12	3	2	11000	2500	NO CUMPLE
	100	36	41	5	5	3850	500	NO CUMPLE
	1000	12	18	1	3	15000	2000	NO CUMPLE
	100	25	26	2	2	2550	200	NO CUMPLE
	100	33	31	4	4	3200	400	NO CUMPLE
	100	31	35	6	4	3300	500	NO CUMPLE
	100	32	35	4	5	3350	450	NO CUMPLE
	1000	13	11	3	7	12000	5000	NO CUMPLE
	100	18	16	3	2	1700	250	NO CUMPLE
	100	26	28	9	10	2700	950	NO CUMPLE
	100	12	18	6	6	1500	600	NO CUMPLE
	100	41	43	5	7	4200	600	NO CUMPLE
	100	17	16	5	4	1650	450	NO CUMPLE
	100	23	21	3	2	2200	250	NO CUMPLE
	1000	11	14	3	4	12500	3500	NO CUMPLE
	100	32	35	4	4	3350	400	NO CUMPLE
	100	26	31	4	3	2850	350	NO CUMPLE
	100	36	38	3	2	3700	250	NO CUMPLE
	100	41	43	10	9	4200	950	NO CUMPLE

Apéndice C: Mercado 2 Mes: Agosto a septiembre 2023

Recoleccion de datos							
Ubicación:	Alborada 9na etapa. Isidro ayora y, av. Benjamín Carrión Mora						
tipo de mercado:	Franquicia						
Meses de analisis:	Agosto -Noviembre						
Matriz:	Carne de Pollo crudo						
Presentacion:	En refrigeracion						
Analisis:	Se realiza por duplicado						
DATOS PRIMARIOS							
LECTURAS OBTENIDAS (UFC /g)							
Categoria: Carne pollo							
Ubicación:	Alborada 9na etapa. Isidro ayora y, av. Benjamín Carrión Mora						
Mes:	Agosto -Noviembre						
Requisitos:	100 UFC/g						
Total de Muestra	133						
MES	Diluciones	Coliformes totales UFC/g		E.coli UFC/g		Promedio C.T UFC/g	Promedio: Ecoli UFC/g
AGOSTO	100	7	9	0	0	800	0
	100	12	14	0	0	1300	0
	10	15	22	0	0	185	0
	10	23	21	0	0	220	0
	10	18	22	0	0	200	0
	10	24	26	0	0	250	0
	100	9	6	0	0	750	0
	100	12	16	0	0	140	0
	10	15	17	0	0	160	0
	10	8	11	0	0	95	0
	10	9	11	0	0	100	0
	10	7	9	0	0	80	0
	10	16	18	0	0	170	0
	10	7	4	0	0	55	0
	10	14	10	0	0	120	0
	100	30	35	0	0	3250	0
	100	31	36	0	0	3350	0
	100	28	31	0	0	2950	0
	10	6	9	0	0	75	0
	10	7	8	0	0	75	0
	10	11	7	0	0	90	0
	100	15	12	0	0	1350	0
	100	33	31	0	0	3200	0
	100	18	24	0	0	2100	0
	100	36	34	0	0	3500	0
	100	28	31	0	0	2950	0
	100	34	25	0	0	2950	0
	100	21	26	0	0	2350	0
	10	32	35	0	0	335	0
	10	28	32	0	0	300	0
10	26	21	0	0	235	0	
10	37	35	0	0	360	0	
10	16	11	0	0	135	0	
Septiembre	100	31	28	0	0	2950	0
	100	18	24	0	0	2100	0
	100	25	21	0	0	2300	0
	100	27	25	0	0	2600	0
	100	28	22	0	0	2500	0
	100	21	27	0	0	2400	0
	10	6	9	0	0	75	0
	100	12	17	0	0	1450	0
	10	22	17	0	0	195	0
	10	10	9	0	0	95	0
	10	26	25	0	0	255	0
	10	14	12	0	0	130	0
	100	18	21	0	0	1950	0
	100	31	37	0	0	3400	0
	100	23	31	0	0	2700	0
	10	15	12	0	0	135	0
	100	39	37	11	14	3800	12,5
	10	32	35	13	9	335	11
	100	54	51	5	9	5250	7
	100	28	23	1	3	2550	2
	100	38	37	3	4	3750	3,5
	100	28	21	9	11	2450	10
	100	45	41	10	7	4300	8,5
	10	38	35	4	6	365	5
	100	43	41	3	5	4200	4
	10	29	25	7	4	270	5,5
	100	32	37	5	7	3450	6
	100	37	39	9	12	3800	10,5
	100	34	32	5	8	3300	6,5
	100	35	37	2	5	3600	3,5
100	39	31	11	7	3500	9	
10	18	16	3	2	170	2,5	
10	10	18	2	4	140	3	
10	21	23	4	5	220	4,5	

MES	Diluciones	Coliformes totales UFC/g		E.coli UFC/g		Promedio C.T UFC/g	Promedio: Ecoli UFC/g
Octubre	100	32	37	0	0	3450	0
	100	35	35	0	0	3500	0
	10	27	22	0	0	245	0
	10	33	35	0	0	340	0
	10	16	22	0	0	190	0
	10	27	26	0	0	265	0
	100	32	35	0	0	3350	0
	10	31	27	0	0	290	0
	10	35	41	0	0	380	0
	10	25	27	0	0	260	0
	10	26	21	0	0	235	0
	10	18	24	0	0	210	0
	10	41	43	0	0	420	0
	10	32	26	0	0	290	0
	10	35	32	0	0	335	0
	100	27	25	0	0	2600	0
	100	36	34	0	0	3500	0
	100	10	11	0	0	1050	0
	10	18	15	0	0	165	0
	10	11	9	0	0	100	0
	10	16	11	0	0	135	0
	100	27	22	0	0	2450	0
	100	33	26	0	0	2950	0
	100	18	15	0	0	1650	0
	100	30	31	0	0	3050	0
	100	28	26	0	0	2700	0
	100	34	32	0	0	3300	0
	100	18	13	0	0	1550	0
	10	24	23	0	0	235	0
	10	15	19	0	0	170	0
10	36	37	0	0	365	0	
10	32	36	0	0	340	0	
100	12	11	0	0	1150	0	
Noviembre	100	12	13	0	0	1250	0
	100	30	35	0	0	3250	0
	10	21	22	0	0	215	0
	10	32	35	0	0	335	0
	10	18	22	0	0	200	0
	10	24	26	0	0	250	0
	100	31	27	0	0	2900	0
	10	13	16	0	0	145	0
	10	11	9	0	0	100	0
	10	14	10	0	0	120	0
	10	24	20	0	0	220	0
	10	27	21	0	0	240	0
	10	28	36	0	0	320	0
	10	18	27	0	0	225	0
	10	25	27	0	0	260	0
	100	31	36	0	0	3350	0
	100	14	13	0	0	1350	0
	100	16	24	0	0	2000	0
	10	16	23	0	0	195	0
	10	5	8	0	0	65	0
	10	17	16	0	0	165	0
	100	9	15	0	0	1200	0
	100	26	32	0	0	2900	0
	100	17	21	0	0	1900	0
	100	26	25	0	0	2550	0
	100	10	11	0	0	1050	0
	10	12	18	0	0	150	0
	100	14	11	0	0	1250	0
	10	25	21	0	0	230	0
	10	16	17	0	0	165	0
10	8	5	0	0	65	0	
10	12	11	0	0	115	0	
10	6	11	0	0	85	0	

Apéndice D: Mercado 2 Mes: Agosto a diciembre 2023

Recolección de datos						
Ubicación:	Los Rosales 1 en la Avenida principal a lado de la clínica Rosales					
tipo de mercado:	Franquísia					
Meses de análisis:	Agosto - Noviembre					
Matriz:	Carne de Pollo crudo					
Presentación:	Congelado					
Análisis:	Se realiza por duplicado					
LECTURAS OBTENIDAS (UFC /g)						
Categoría: Carne pollo						
Ubicación:	Los Rosales 1 en la Avenida principal a lado de la clínica Rosales					
Mes:	Agosto -Noviembre					
Requisitos:	100 UFC/g					
Total de Muestra	132					
MES	Diluciones	Coliformes totales UFC/g	E.coli UFC/g	Promedio C.T UFC/g	Promedio: Ecoli UFC/g	
AGOSTO	10	4	3	0	12	0
	10	5	7	0	35	0
	10	0	0	0	0	0
	10	1	5	0	5	0
	10	6	8	0	48	0
	10	12	10	0	120	0
	10	11	12	0	132	0
	10	9	10	0	90	0
	10	7	11	0	77	0
	100	11	13	0	143	0
	10	10	11	0	110	0
	10	7	9	0	63	0
	10	5	8	0	40	0
	10	8	6	0	48	0
	10	12	10	0	120	0
	10	11	12	0	132	0
	10	7	9	0	63	0
	10	6	9	0	54	0
	10	5	7	0	35	0
	10	11	9	0	99	0
	10	21	15	0	315	0
	100	23	25	0	575	0
	10	4	7	0	28	0
	10	11	9	0	99	0
	10	5	8	0	40	0
	10	11	8	0	88	0
	10	6	9	0	54	0
	10	10	7	0	70	0
	10	8	11	0	88	0
	100	14	12	0	168	0
100	15	18	0	270	0	
10	17	11	0	187	0	
10	11	19	0	209	0	
Septiembre	10	15	14	0	210	0
	10	13	15	0	195	0
	10	6	9	0	54	0
	10	8	4	0	32	0
	100	11	16	0	176	0
	10	8	12	0	96	0
	10	25	26	0	650	0
	10	16	23	0	368	0
	10	6	8	0	48	0
	10	10	9	0	90	0
	10	1	2	0	2	0
	10	5	3	0	15	0
	10	12	16	0	192	0
	10	15	5	0	75	0
	10	0	0	0	0	0
	10	12	11	0	132	0
	10	9	6	0	54	0
	10	0	0	0	0	0
	10	3	5	0	15	0
	10	5	7	0	35	0
	10	0	0	0	0	0
	10	2	6	0	12	0
	10	3	7	0	21	0
	10	6	3	0	18	0
	10	0	0	0	0	0
	10	2	5	0	10	0
	10	1	4	0	4	0
	10	6	2	0	12	0
	10	0	0	0	0	0
	10	5	8	0	40	0
10	2	5	0	10	0	
10	0	0	0	0	0	
10	11	18	0	198	0	
10	15	12	0	180	0	

MES	Diluciones	Coliformes totales		E.coli UFC/g		Promedio C.T	Promedio:
		UFC/g				UFC/g	Ecoli UFC/g
Octubre	10	3	5	0	0	15	0
	10	5	8	0	0	40	0
	10	4	1	0	0	4	0
	10	7	9	0	0	63	0
	10	12	16	0	0	192	0
	100	13	16	0	0	208	0
	10	0	0	0	0	0	0
	10	2	6	0	0	12	0
	10	4	3	0	0	12	0
	10	21	27	0	0	567	0
	10	15	14	0	0	210	0
	10	2	1	0	0	2	0
	10	1	4	0	0	4	0
	10	1	3	0	0	3	0
	10	12	15	0	0	180	0
	10	22	27	0	0	594	0
	10	12	17	0	0	204	0
	100	15	11	0	0	165	0
	10	10	7	0	0	70	0
	10	5	9	0	0	45	0
	10	3	1	0	0	3	0
	10	5	7	0	0	35	0
	100	26	25	0	0	650	0
	10	16	15	0	0	240	0
	10	21	18	0	0	378	0
	10	16	15	0	0	240	0
	10	10	6	0	0	60	0
	10	2	2	0	0	4	0
	10	5	1	0	0	5	0
	10	16	19	0	0	304	0
100	21	26	0	0	546	0	
10	1	3	0	0	3	0	
10	7	9	0	0	63	0	
Noviembre	10	4	3	2	0	12	1
	10	21	23	0	0	483	0
	10	25	26	0	0	650	0
	10	11	16	0	0	176	0
	10	6	7	0	0	42	0
	10	12	17	0	0	204	0
	100	25	27	0	0	675	0
	10	16	18	0	0	288	0
	10	0	4	0	0	0	0
	10	12	10	0	0	120	0
	10	6	8	0	0	48	0
	10	2	6	0	0	12	0
	10	7	10	0	0	70	0
	10	15	21	0	0	315	0
	10	12	17	0	0	204	0
	10	5	8	0	0	40	0
	10	4	1	0	0	4	0
	10	1	1	0	0	1	0
	10	2	5	0	0	10	0
	10	7	4	0	0	28	0
	10	13	16	0	0	208	0
	10	5	2	0	0	10	0
	100	5	8	0	0	40	0
	10	5	7	0	0	35	0
	10	1	3	0	0	3	0
	10	6	11	0	0	66	0
	10	4	2	0	0	8	0
	10	8	9	0	0	72	0
	10	12	16	0	0	192	0
	10	2	6	0	0	12	0
10	21	24	0	0	504	0	
100	26	27	0	0	702	0	
10	12	16	0	0	192	0	

DATOS PRIMARIOS								
LECTURAS OBTENIDAS (UFC /g)								
Categoría: Carne Pollo Cruda								
Ubicación:	MERCADO TUNEL PARAISO DE LA FLOR							
Mes:	DICIEMBRE							
Requisitos:	100 UFC/g							
Total de Muestra	51							
DICIEMBRE	Diluciones	Coliformes totales UFC/g		E.coli UFC/g		Promedio C.T UFC/g	Promedio: Ecoli UFC/g	
	100	41	38	18	22	39,5	2000	NO CUMPLE
	100	44	41	11	10	42,5	1050	NO CUMPLE
	100	38	32	15	10	35	1250	NO CUMPLE
	100	37	42	16	14	39,5	1500	NO CUMPLE
	1000	38	41	5	21	39500	13000	NO CUMPLE
	1000	20	25	6	10	22500	8000	NO CUMPLE
	1000	12	8	1	1	10000	1000	NO CUMPLE
	100	31	33	10	11	3200	1050	NO CUMPLE
	1000	23	25	8	10	24000	9000	NO CUMPLE
	100	31	35	11	10	3300	1050	NO CUMPLE
	100	29	32	9	8	3050	850	NO CUMPLE
	1000	24	18	2	3	21000	2500	NO CUMPLE
	100	34	31	8	11	3250	950	NO CUMPLE
	1000	21	23	5	3	22000	4000	NO CUMPLE
	1000	15	13	4	6	14000	5000	NO CUMPLE
	10	53	56	2	1	545	15	CUMPLE
	100	37	32	1	0	3450	50	CUMPLE
	100	34	36	2	2	3500	200	NO CUMPLE
	10	44	39	5	8	415	65	CUMPLE
	100	37	36	3	5	3650	400	NO CUMPLE
	10	56	53	12	11	545	115	NO CUMPLE
	100	42	47	5	7	4450	600	NO CUMPLE
	100	46	42	2	1	4400	150	NO CUMPLE
	1000	36	44	1	0	40000	500	NO CUMPLE
	100	47	53	2	4	5000	300	NO CUMPLE
	100	21	25	3	4	2300	350	NO CUMPLE
	100	31	28	4	6	2950	500	NO CUMPLE
	100	16	14	3	1	1500	200	NO CUMPLE
	10	37	32	2	2	345	20	CUMPLE
	100	16	18	3	1	1700	200	NO CUMPLE
	1000	36	31	1	0	33500	500	NO CUMPLE
100	37	36	2	2	3650	200	NO CUMPLE	
1000	10	8	2	1	9000	1500	NO CUMPLE	
100	23	26	3	5	2450	400	NO CUMPLE	
100	11	15	3	5	1300	400	NO CUMPLE	
10	26	31	5	6	285	55	CUMPLE	
100	36	31	3	6	3350	450	NO CUMPLE	
100	35	37	2	4	3600	300	NO CUMPLE	
10	34	36	5	6	350	55	CUMPLE	
10	23	21	3	1	220	20	CUMPLE	
10	18	23	4	2	205	30	CUMPLE	
10	38	37	5	7	375	60	CUMPLE	
10	39	41	5	4	400	45	CUMPLE	
10	28	27	2	5	275	35	CUMPLE	
10	41	38	7	10	395	85	CUMPLE	
100	38	40	3	2	3900	250	NO CUMPLE	
10	39	41	2	3	400	25	CUMPLE	
10	37	31	3	3	340	30	CUMPLE	
100	38	36	3	3	3700	300	NO CUMPLE	
10	39	40	2	3	395	25	CUMPLE	
100	32	36	3	4	3400	350	NO CUMPLE	

Apéndice E: Análisis de Varianza de Coliformes Totales en Mercado mayorista 1B

Análisis de varianza de un factor COLIFORMES TOTALES MERCADO 1B

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Coliformes Totales UFC/g	18	68340	3796,66667	1555317,647
Coliformes Totales UFC/g	15	116050	7736,66667	168030523,8
Coliformes Totales UFC/g	54	338255	6263,98148	42923386,21

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	na de cuadracrados de libertad	di de los cuac	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	136382641	2	68191320,4	1,230835457	0,297260906	3,105156608
Dentro de los grupos	4653807202	84	55402466,7			
Total	4790189843	86				

F > F_{0,05} Existe evidencia entre grupos

F < F_{0,05} La variación entre grupos no es significativa

Apéndice F: Análisis de Varianza de Coliformes Totales UFC/g entre mercados al populares y de Franquicias

RESUMEN UFC/g Coliformes Totales Entre Mercados

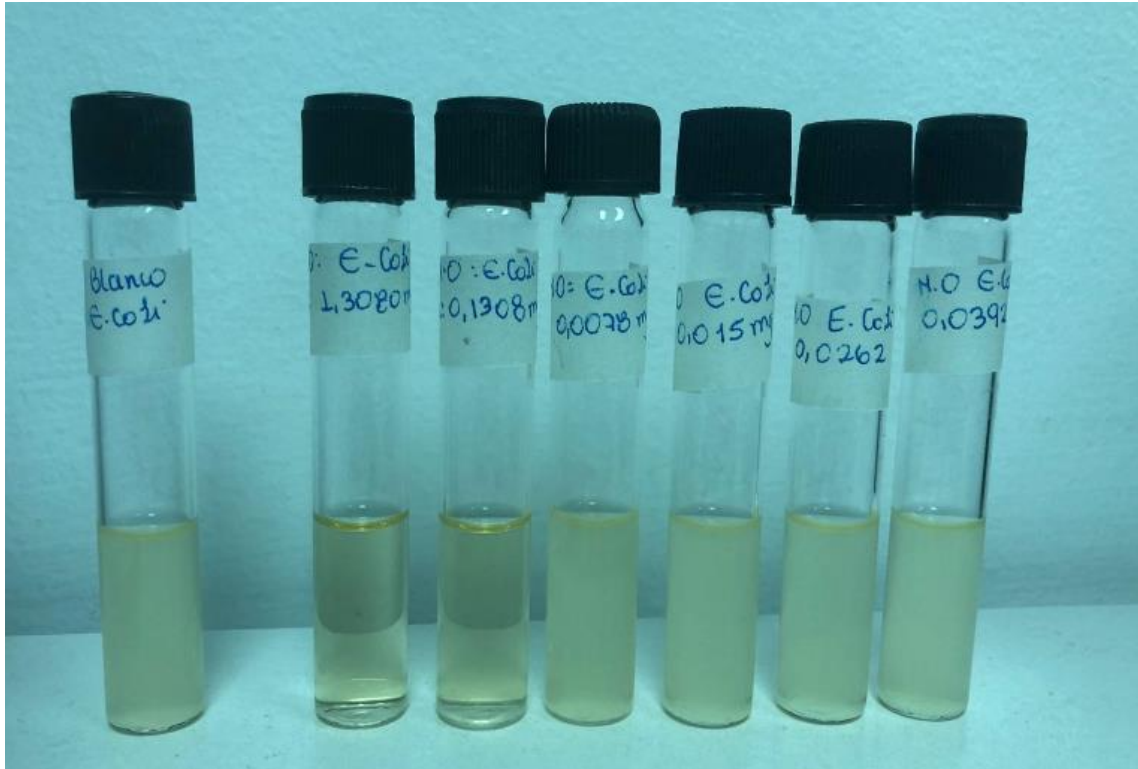
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Mercado				
Mayorista	153	883346,5	5773,506536	65219180
Franquisia 1	133	174900	1315,037594	1909037,688
Franquisia 2	132	16928	128,2424242	28384,3988

418

ANÁLISIS DE VARIANZA UFC/g Coliformes Totales Entre Mercados

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2566627023	2	1283313512	52,37227942	5,23E-21	3,01746181
Dentro de los gri	10169026692	415	24503678,77			
Total	12735653715	417				

ANEXO A: Concentración Mínima Inhibitoria (Gentamicina)



Anexo B: Certificado de Material de referencia *Escherichia coli* ATCC:11229

Microbiologics
 Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

Specifications Microorganism Name: <i>Escherichia coli</i> Catalog Number: 0681 Lot Number: 081-0311 Reference Number: ATCC® 11229™ Passage from Reference: 3	Expiration Information Expiration Date: 2024/2/29 Release Information: Quality Control Technologist: Kassandra L. Hall Release Date: 2022/3/02
Performance Macroscopic Features: Large, irregular, raised; gray and rough; greening of agar may be present. Microscopic Features: Gram negative straight rod. ID System: MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	Medium: SBA5 Method: Gram Stain (1) Other Features/Challenges- Results (1) Oxidase (Kovacs): negative <i>Amara Kuperus</i> Amara Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE

Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.
 Individual products are traceable to a recognized culture collection.

ATCC Licensed Producer
 ISO 9001:2015
 ACCREDITED

(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC coding mark are trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC cultures.

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025.

*recibido - verificado
 Andrea 4/11/22*

TESTING CERT #2655.01

ANEXO C: Certificado de Calidad de Petrifilm *Escherichia coli*/Coliformes Totales



Created by Authorized Personnel: Kinga Smolarska, 2022-12-09
 Manufacture Date: 2022-11-30
 Expiration Date: 2024-05-30

Product Manufacturing Certificate

Certificate of Analysis

Product: 3M™ Petrifilm™ *E. coli*/Coliform Count Plates 6404 or 6414 or 6444
 Batch: 418322334A
 Stock Number: UU008196428 or UU008196477 or UU008196345
 ERP Number: 7100126767 or 7100126845 or 7100126811

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 14506	No Growth	Pass
<i>Enterobacter amnigenus</i> ATCC 51818	≥-3.0*, red with gas	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 51813	≥-3.0*, blue with gas	Pass
<i>Hafnia alvei</i> ATCC 51815	≥-3.0*, red with gas	Pass
<i>Klebsiella oxytoca</i> ATCC 51817	≥-3.0*, red with gas	Pass
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 51812	≥-3.0*, red without gas	Pass

*Expressed as the number of standard deviations away from the average count on standard agar medium.

ISO 11133:2014 Performance Testing

Organism Tested	Growth Specification	Result
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (WDCM 00013)	Productivity Ratio≥0.5	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC NCTC 13216 (WDCM 00202)	Productivity Ratio≥0.5	Pass
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (WDCM 00012)	Productivity Ratio≥0.5	Pass
<i>Citrobacter freundii</i> 43864 (WDCM 00007)	Atypical Growth	Pass
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853 (WDCM 00025)	Atypical Growth	Pass
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 (WDCM 00087)	No Growth	Pass

Contamination Check

Test Plan	Result
96 Randomized plates per batch tested per a statistical sampling plan	Pass

This material complies with the 3M specifications for this product construction, and applicable criteria for routine quality control and microbiological performance of ISO 11133. 3M Wroclaw is certified to ISO 9001 through an independent agency.

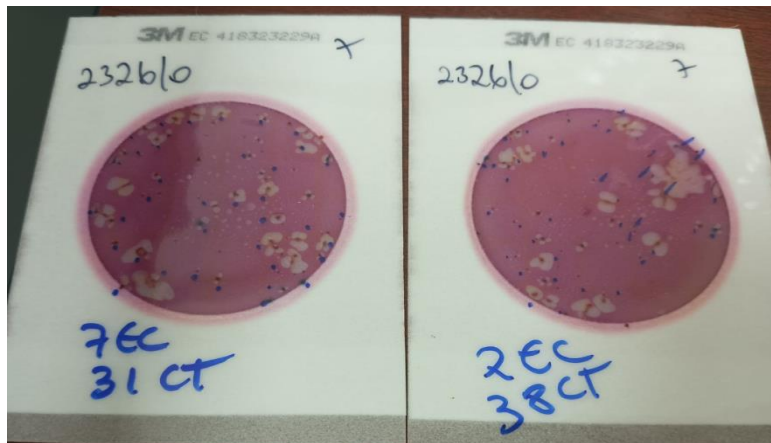
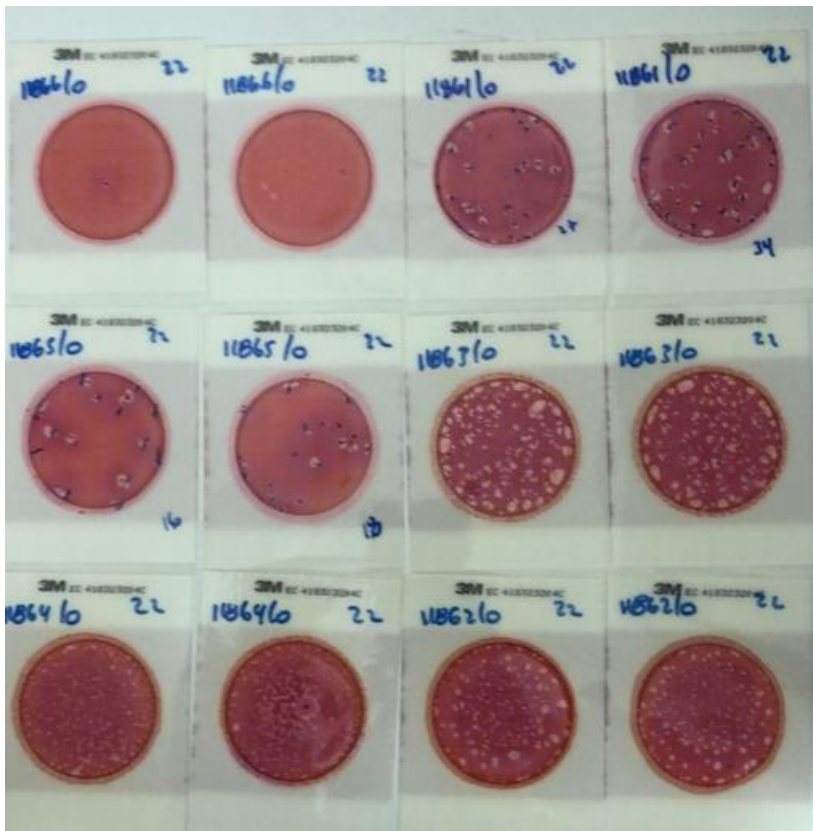
3M Company
 3M Center, Building 275-5W-05
 St. Paul, MN 55144-1000 Phone: 1-800-328-1671

3M and Petrifilm are trademarks of 3M. Please recycle.
 Printed in USA © 3M 2022. All rights reserved.

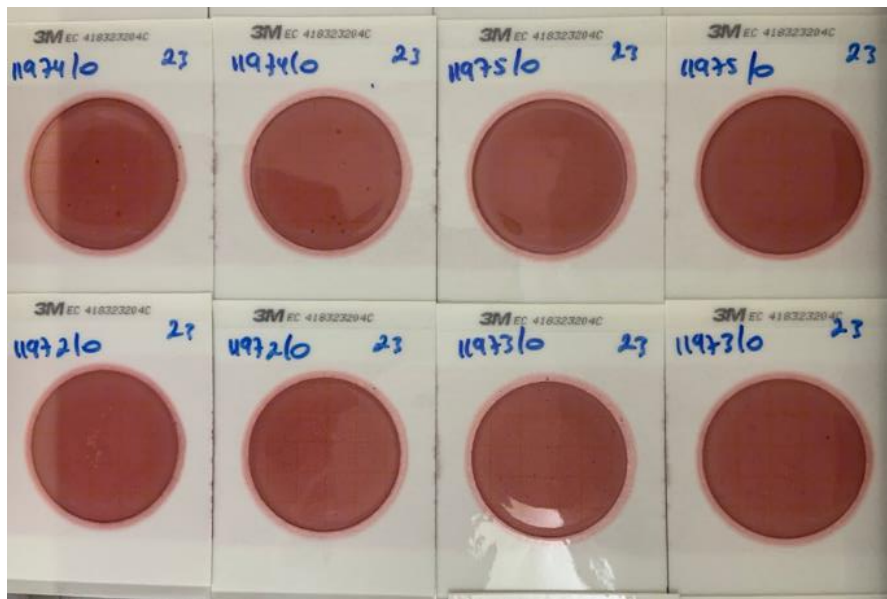
Version 9

EC
E. coli/Coliform Count Plate

ANEXO D: Resultados de Siembra en Petrifilm 3M de Mercado 1B



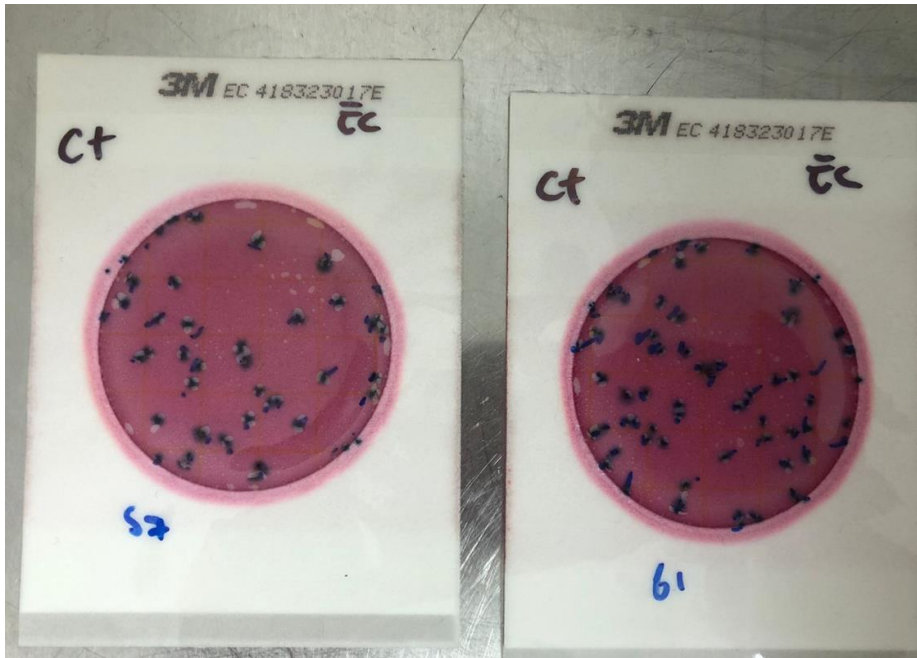
ANEXO E: Resultados de Siembra en Petrifilm 3M de Mercado 2



ANEXO F: Resultados de Siembra en Petrifilm 3M de Mercado 3



ANEXO G: Control POSITIVO *Escherichia coli*



ANEXO H: Control Inhibición *Stafilococcus aureus*

